UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

"*CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMATODO AGALLADOR DE LAS RAÍCES DE LA NARANJILLA Meloidogyne* spp *MEDIANTE AISLAMIENTOS NATIVOS DE HONGOS NEMATÓFAGOS*"

Tesis de Grado previa a la obtención del Título de Ingeniero Agrónomo.

Autor:

Milton Augusto Duarte Paucar

Director:

Dr.Ing. Tulio Fernando Solano Castillo, Mg.Sc

Loja – Ecuador

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Ingeniero Agrónomo
Dr. Tulio Fernando Solano Castillo Mg.Sc.
DOCENTE DE LA CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA
DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICO:

Que el trabajo de investigación de tesis:"*Control biologico del nematodo agallador de las raices de la naranjilla* ***Meloidogyne spp*** *mediante aislamientos nativos de hongos nematofagos*", de la autoría de Milton Augusto Duarte Paucar, Egresado de la Carrera de Ingeniería Agronómica, ha sido desarrollada bajo mi dirección, acorde con las actividades establecidas en el cronograma de ejecución del proyecto aprobado, y sujetándose a la rigurosidad científica y las normas de redacción técnica.

Por lo expuesto autorizo al Autor indicado, la presentación del documento de tesis respectivo para que continúe con los trámites legales de graduación.

Loja, 29 de junio de 2015

Dr. Ing. Tulio Fernando Solano Castillo Mg.Sc.
DIRECTOR DE TESIS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
AREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
CARRERA DE INGENIERIA AGRONÓMICA

CERTIFICACION

Una vez cumplida la reunión del Tribunal de calificación del Trabajo Final de Tesis: **"CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMATODO AGALLADOR DE LAS RAÍCES DE LA NARANJILLA *Meloidogyne* spp MEDIANTE AISLAMIENTOS DE HONGOS NEMATÓFAGOS"**, de la autoría del señor **MILT ON AUGUSTO DUARTE PAUCAR**, egresado de la Especialidad de Ingeniería Agronómica, se propuso algunas correcciones de forma, las mismas que han sido incluidas en el documento final.

En tal virtud, nos permitimos certificar que el trabajo final consolidado de investigación está acorde a los requerimientos de la Carrera de Ingeniería Agronómica del Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, por lo tanto se autoriza continuar con los trámites correspondientes.

Loja, 07 de agosto del 2015

Dra. Zoila Zaruma Hidalgo .....
PRESIDENTA

Ing. Edmigio Valdivieso Caraguay .....
VOCAL

Ing. Kléver Chamba Caillagua .....
VOCAL

Ciudad Universitaria "Guillermo Falconí Espinosa"
teléfono: 2545329 *e-mail:agronomiaunl@yahoo.es*
Loja- Ecuador

AUTORÍA

Yo, Milton Augusto Duarte Paucar, declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional - Biblioteca Virtual.

Autor: Milton Augusto Duarte Paucar

Firma: .....

Cédula: 1104416464

Fecha: 07/08/2015

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.

Yo, Milton Augusto Duarte Paucar declaro se autor de la tesis titulada "*CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMATODO AGALLADOR DE LAS RAÍCES DE LA NARANJILLA Meloidogyne spp MEDIANTE AISLAMIENTOS NATIVOS DE HONGOS NEMATOFAGOS*", como requisito para optar al grado de: **INGENIERO AGRÓNOMO**, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la reproducción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las Redes de Información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja no se responsabiliza plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 07 días del mes de agosto del 2015, firma el autor.

Firma:	_____
Autor:	Milton Augusto Duarte Paucar
Número de Cédula:	1104416464
Dirección:	Loja, 10 de agosto entre Lauro Guerrero y Ramón Pinto.
Correo electrónico:	1000tonad@hotmail.es
Teléfono:	3032218
Celular:	0992146518

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de Tesis: Dr. Tulio Solano Castillo.

Tribunal de Grado:	Dra. Zoila Zaruma Hidalgo	PRESIDENTA
	Ing. Edmigio Valdivieso Caraguay	VOCAL
	Ing. Klever Chamba Caillagua	VOCAL

AGRADECIMIENTO

Agradecer a muchas personas que han intervenido directa o indirectamente, pues sin ellas no hubiese sido su finalización.

En especial al Dr. Ing. Tulio Solano Castillo Mg. Sc., en calidad de Director de tesis, por haberme dado la oportunidad de llevar a cabo el proyecto de tesis en las instalaciones del Laboratorio de Sanidad Vegetal e invernadero de la Universidad, por el respaldo, orientación, amplios conocimientos y experiencia durante el transcurso del mismo.

A la Ing. Jeamel Ruiz, técnica del Laboratorio de Sanidad Vegetal, por su apoyo incondicional durante la ejecución de mi tesis, quien impartió sus conocimientos, experiencias y consejos, para llevar a cabo de buena manera la finalización de mi tesis.

A mis compañeros tesistas, Sandra Curimilma y Alex Acaro, por su valioso apoyo, compañía y amistad incondicional.

A mi Carrera Ingeniería Agronómica, a sus docentes por los conocimientos y experiencias impartidas y adquiridas en todos los años de estudio que son de significancia en mi vida.

A mi familia por ser el eje principal de inspiración y motivo de triunfar en la vida.

A todos aquellos que hicieron posible este objetivo.

El Autor

DEDICATORIA

Primeramente a Dios por darme el regalo de la vida, y haber puesto en mi camino está oportunidad de llevar a cabo al feliz término de un objetivo más de mi vida.

A la **Virgen María** por ser mi guía y darme luz de esperanza para poder cumplir con este objetivo.

A mí querida familia; en especial a mis padres **Lorenza y Andrés†,** que a pesar de que ya no se encuentra a mi lado para acompañarme en este logro, sé que desde el cielo me está apoyando incondicionalmente, agradecer por ser mi fuente de inspiración para seguir adelante, por sus consejos de perseverancia, confianza, apoyo y amor incondicional; A mis hermanos, **Abraham, Oscar, Ervin, Franklin, Lida, María y Lorena,** por su cariño sincero y apoyo económico.

A todos quienes, compartieron experiencias y conocimientos en la realización de este trabajo; y a los lectores que quieran seguir investigando nuevas alternativas de solución para los productores, quieran ser parte de un desarrollo local y dar un aporte a la ciencia.

Milton

ÍNDICE GENERAL

PORTADA i
CERTIFICACIÓN ii
APROBACIÓN iii
AUTORIA iv
CARTA DE AUTORIZACIÓN v
AGRADECIMIENTO vi
DEDICATORIA vii
ÍNDICE GENERAL viii
ÍNDICE DE CUADROS xii
ÍNDICE DE FIGURAS xiii
ÍNDICE DE ANEXOS xv
RESUMEN xviii
ABSTRACT xix
1. INTRODUCCIÓN 1
2. REVISIÓN DE LITERATURA 3
2.1. HISTORIA E IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA NARANJILLA 3
2.2. NEMATODO AGALLADOR DE RAICES DE LA NARANJILA *Meloidogyne* spp. 4
2.2.1. Clasificación taxonómica de *Meloidogyne* spp. 4
2.2.2. Características morfológicas de *Meloidogyne* spp. 4
2.2.3. Ciclo biológico y patológico 6
2.2.4. Distribución y diseminación 7
2.2.5. Síntomas y rango de hospedero 7
2.2.6. Características de *Meloidogyne javanica* 8
2.2.7. Técnicas de identificación de especies de *Meloidogyne*. 9
2.2.7.1. Cortes perineales 9
2.2.7.2. Morfología de cabezas de machos 9
2.2.7.3. Medida de larvas J_2 10
2.2.8. Técnica para aislamiento de larvas J_2 10
2.2.9. Técnica para aislamiento de huevos 11
2.3. MÉTODOS DE CONTROL DEL NEMATODO AGALLADOR 11
2.3.1. Control físico 11
2.3.2. Control cultural 11

2.3.3. Control químico 12
2.3.4. Control biológico 12
2.4. CONTROL BIOLOGICO DE *Meloidogyne* spp MEDIANTE HONGOS NEMATOFAGOS 12
2.4.1. *Pochonia chlamydosporia.* 12
2.4.1.1. Clasificación taxonómica de *Pochonia chlamydosporia* 13
2.4.1.2. Características morfológicas. 13
2.4.1.3. Modo de acción *Pochonia spp* sobre huevos de *Meloidogyne* spp. y proliferación. 14
2.4.2. *Purpureocillium (Paecilomyces* spp*)* 15
2.4.2.1. Clasificación taxonómica de *Purpureocillium* spp 15
2.4.2.2. Características morfológicas del genero *Purpureocilliums* pp. 15
2.4.2.3. Modo de acción de *Purpureocillium lilacinus.* 16
2.4.3. *Fusarium* spp. 17
2.4.3.1. Clasificación taxonómica de *Fusarium* spp 17
2.4.3.2. Características morfológicas del género *Fusarium* 18
2.4.3.3. Modo de acción de *Fusarium* spp. 18
2.5.3. *Trichoderma* spp. 19
2.5.3.2. Clasificación taxonómica de *Trichoderma.* 19
2.5.3.3. Características morfológicas del genero *Trichoderma* spp. 20
2.5.3.4. Condiciones favorables para *Trichoderma* spp. 20
2.5.3.5. Mecanismos de parasitismo de *Trichoderma* sobre nematodos fitopatógenos. 21
2.6. Trabajos realizados con Hongos nematofagos en condiciones *in vitro* e invernadero 23
3. MATERIALES Y MÈTODOS 30
3.1. ZONAS DE MUESTREO DE HONGOS NEMATÓFAGOS 30
3.2. UBICACIÓN DE LOS ENSAYOS 31
3.2.1. Fase de Laboratorio e Invernadero 31
3.3. MATERIALES 31
3.3.1. Materiales de campo 31
3.3.2. Materiales de laboratorio 31
3.2. MÈTODOS 32
3.2.1. Metodología para el primer objetivo 32

3.2.2. Metodología para el segundo objetivo....32

3.2.2.1. Aislamiento de hongos parásitos de huevos....33

3.2.2.2. Aislamiento de hongos parásitos de larvas J_2....33

3.2.2.5. Evaluación de aislamientos en invernadero....36

3.2.3. Metodología para el tercer objetivo....38

3.2.4. Metodología para el cuarto objetivo....39

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN....40

4.1. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECIE DE *Meloidogyne* PREDOMINANTE EN EL CULTIVO DE NARANJILLA....40

4.1.1. Caracterización morfológica de las especies de *Meloidogyne* identificadas....40

4.2. EFECTIVIDAD DE LOS AISLAMIENTOS DE HONGOS NEMATÓFAGOS NATIVOS EN EL CONTROL DE *M. javanica*....44

4.2.1. Prospección y aislamiento de hongos nematófagos....44

4.2.2.. Evaluación de los aislamientos en la fase *in vitro*....46

4.2.3. Evaluación de los Aislamientos a nivel de invernadero....49

4.2.3.1. Altura de planta, biomasa foliar y biomasa radical....49

4.2.3.2. Índice de agallamiento en raíces de naranjilla, población de J_2 en 10 gramos de raíces y 100 cc de suelo....50

4.2.3.3. Síntomas de agallamientos y deformación de células en cortes de tejidos nodulados 52

4.3. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE AISLAMIENTOS DE HONGOS NEMATÓFAGOS DE MAYOR EFECTIVIDAD CONTRA *M. javanica*....53

4.4.1. Características morfológicas de *Fusarium* spp. Aislamiento YEL1*F*....54

4.4.2. Características morfológicas de *Pochonia* spp. Aislamiento Pch001*V*....54

4.4.3. Características morfológicas de *Purpureocillium* spp. Aislamiento P004*P*....55

4.4.4. Características morfológicas de *Purpureocilliums* spp. Aislamiento P002*P*....56

4.4.5. Características morfológicas de *Purpureocillium* spp. Aislamiento LAA (H)*P*....56

4.4.6. Características morfológicas de *Purpureocillium* spp. Aislamiento CTT1 (H)*P*....57

4.4.7. Características morfológicas de *Purpureocillium* spp. Aislamiento CZG (H)*P*....58

4.4.8. Características morfológicas de *Trichoderma* spp. Aislamiento YEB (J_2)*T*....58

4.4.9. Características morfológicas de *Trichoderma* spp. Aislamiento NZP (J_2) *T*....59

4.4.10. Características morfológicas de *Trichoderma* spp. Aislamiento YEL1 (J_2)*T*....60

3.4. SOCIALIZACIÓN DE RESULTADOS DE INVESTIGACIÓN....60

4. CONCLUSIONES 54
5. RECOMENDACIONES 62
6. BIBLIOGRAFIA 63
8. ANEXOS 76

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos evaluados en ensayo *in vitro*. Loja. 2015. 35

Cuadro 2. Tratamientos utilizados en el control del nematodo agallador, en condiciones de invernadero. Loja. 2015. 38

Cuadro 3. Parámetros para identificar taxonómicamente la especie de *Meloidogyne* predominante en cultivos de naranjilla de la provincia Zamora Chinchipe. 43

Cuadro 4. Aisilamientos fúngicos nematofagos aislados de muestras de suelo y raíces agalladas en zonas de muestreo de Z. Chinchipe y Loja. Loja. 2015. 45

Cuadro 5. Análisis estadístico según Tukey 5%, parasitismo en huevos y larvas J_2 de *M. javanica*, por aislamientos de hongos nematófagos, *in vitro*. Loja. 2015. 47

Cuadro 6. Análisis estadístico según Tukey 5% en el efecto de los aislamientos fúngicos sobre variables agronómicas en plantas de naranjilla, en invernadero, Loja, 2015. 50

Cuadro 7. Análisis estadístico según Tukey 5% en el efecto de aislamientos fúngicos sobre la formación de agallas por *M. javananica* en raíces, población de nematodos en 10g de raíces y 100cc de suelo en condiciones de invernadero. Loja. 2015. 51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de la enfermedad de la agalla de la raíz causada por nematodos del género *Meloidogyne javanica*. 6

Figura 2. Mapa de zonas de muestreo de hongos nematófagos en la provincia de Zamora Chinchipe..... 30

Figura 3. Diseño experimental empleado en condiciones de invernadero Loja, 2015..... 37

Figura 4. Cortes perineales de *M. javanica* observados con objetivo 40x. 40

Figura 5. Cortes perineales de *M. arenaria* observados con objetivo 40x. 41

Figura 6. Fotos contrastadas a blanco y negro. Morfología de cabezas de machos adultos de *M. javanica* observados con el objetivo de inmersión 100x..... 41

Figura 7. Fotos contrastadas a blanco y negro. Morfología de cabezas de machos adultos de *M. arenaria* observados con el objetivo de inmersión 100x..... 42

Figura 8. Larvas J_2 de *M. javanica* observados con el objetivo 10x. 42

Figura 9. Larvas J_2 de *M. arenaria* observadas con el objetivo 10x. 43

Figura 10. a) Parasitismo en larva provocado por *Purpureocillium* spp*, b)* parasitismo en huevo por *Trichoderma* spp *y c)* parasitismo provocado por *Purpureocillium* spp*.* 46

Figura 11. a) Corte longitudinal de raíz sana con células normales. b) Corte transversal de raíz agallada, células elongadas de forma anormal (hipertrofia), células, c) multiplicación celular, formación de agallas (hiperplasia). 53

Figura 12. a) Cultivo de Fusarium spp., colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: mesoconidias y conidióforos (40x). 54

Figura 13. a) Cultivo de *Pochonia* spp., colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: clamidosporas y conidióforos (40x). 54

Figura 14. **a)** Cultivo de *Purpureocillium* spp., colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidias y conidióforos (40x). 55

Figura 15. a) Cultivo de *Porpoureocillium* spp*.,* colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidios, conidióforos y fiálides (40x). 56

Figura 16. a) Cultivo de *Purpureocillium* spp*.,* colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidios, conidióforos y fiálides (40x). 56

Figura 17. a) Cultivo de *Purpureocillium* spp., colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidias, conidióforos y fiálides (40x). 57

Figura 18. a) Cultivo de *Purpureocillium* spp*.,* colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidias, conidióforos y fiálides (40x). 58

Figura 19. a) Cultivo de *Trichoderma* spp., colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidias, conidióforos y fiálides (40x). 58

Figura 20. a) Cultivo de Trichoderma spp., colonias de 10 días b) Caja invertida: pigmentación del medio c) Estructuras microscópicas: conidias, conidióforos y fiálides (40x). 59

Figura 21. a) Cultivo de *Trichoderma* spp., colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidias, conidióforos y fiálides (40x). 60

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Escala cuantitativa de daño radical causado por Meloidogyne spp. Taylor y Sasser (1983). 77

Anexo 2. Parasitismo de huevos de *Meloidogyne javanica,* por aislamientos nativos de hongos nematofagos, en condiciones *in vitro*, Loja. 2015. 78

Anexo 3. Parasitismo de juveniles J_2 de *Meloidogyne javanica*, por aislamientos nativos de hongos nematofagos, en condiciones *in vitro*, Loja. 2015. 79

Anexo 4. Efecto de aislamientos fúngicos sobre la variable altura de planta en naranjilla, en invernadero. Loja. 2015. 80

Anexo 5. Efecto de aislamientos fúngicos sobre la variable peso de área foliar sobre en plantas de naranjilla, en invernadero. Loja. 2015. 80

Anexo 6. Efecto de aislamientos fúngicos sobre la variable peso de área radical sobre en plantas de naranjilla, en invernadero. Loja. 2015. 81

Anexo 7. Efecto de aislamientos fúngicos sobre la variable de índice de agallamiento en raíces de plantas de naranjilla, en invernadero. Loja. 2015. 81

Anexo 8. Efecto de aislamientos fúngicos sobre la variable población de raíces en 10 gr de raíces. Loja. 2015. 82

Anexo 9. Efecto de aislamientos fúngicos sobre la variable población de nematodos en 100 c^3 de suelo. Loja. 2015. 82

Anexo 10. Parasitismo de la cepa LAA (H) *Purpureocillium* spp, sobre huevos de *Meloidogyne javanica*. (10X). 83

Anexo 11. Parasitismo de la cepa YEL1 (J2) Trichoderma spp, sobre huevos de Meloidogyne javanica. (10X). 83

Anexo 12. Parasitismo de la cepa YEL1(S) *Fusarium* spp, a) sobre huevos y b) sobre larva J_2 de *Meloidogyne javanica*. (10X). 83

Anexo 13. Parasitismo de la cepa PCh001 *Pochonia* spp, sobre huevos de *Meloidogyne javanica*. (10X). 84

Anexo 14. Masificación de aislamientos de hongos nematofagos. 84

Anexo 15. Etiquetado de tratamientos e Inoculación de hongos nematofagos. 84

Anexo 16. Inoculación de hongos nematofagos. 85

Anexo 17. Cuantificación de agallas para índice de agallamiento según Taylor y Sasser 1983. 85

Anexo 18. Licuado y tamizado de raíces..... 85

Anexo 19. Cuantificación de nematodos en suelo y en raíces 86

Anexo 20. Exposición de resultados obtenidos en la investigación. 86

Anexo 21. Certicado entregado a asistentes en la socialización de resultados. 87

Anexo 22. Tríptico de resultados de investigación entregados a asistentes. 87

“*CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMATODO AGALLADOR DE LAS RAÍCES DE LA NARANJILLA Meloidogyne spp MEDIANTE AISLAMIENTOS NATIVOS DE HONGOS NEMATÓFAGOS***“**

RESUMEN

El cultivo de naranjilla es de gran importancia económica para la región oriental de nuestro país, la fruta es consumida en fresco y en la industria como materia primara para la elaboración de jugos, helados y otros derivados. El cultivo es afectado por una gran cantidad de plagas que intervienen en los procesos fisiológicos de la planta que causan la pérdida parcial o total de las plantaciones. Uno de los problemas comunes es la formación de agallas en la raíz provocadas por el nematodo *Meloidogyne javanica,* con incidencias de 79% y pérdidas de hasta el 50% de la producción, especie que además afecta a otros cultivos de importancia Nacional y Mundial (García y Obando, 2004; Sañudo *et al.* 2003, Gelpud *et al.* 2010: Betancourth *et al.* 2011).

Este problema hasta ahora ha sido controlado mediante el uso de nematicidas de síntesis muy tóxicos para el suelo, el agua y el aire. Ante esta situación, han surgido nuevas alternativas de control amigables con el ambiente, una de ellas el control biológico. En esta investigación se evaluó la eficacia de 30 aislamientos nativos de hongos nematófagos frente a *Meloidogyne javanica.,* en condiciones *in vitro*, de los cuales se seleccionaron los 10 mejores para ensayos de efectividad en condiciones de invernadero.

Las evaluaciones *in vitro* demostraron parasitismo en huevos entre 4.8 a 58.9%, y de 6 a 52.4% en larvas J_2. En invernadero se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para todas las variables analizadas.

Las caracterizaciones morfológicas de hembras, machos y J_2, permitieron determinar que *Meloidogyne javanica* es la especie predominante en el cultivo de naranjilla, la caracterización morfológica de los aislamientos fúngicos en microcultivos, así como la caracterización microscópica de las estructuras vegetativas y reproductivas de los aislamientos, permitió la identificación taxonómica de los géneros *Purpureocillium, Pochonia, Trichoderma y Fusarium.*, los ensayos permitieron concluir que los mejores aislamientos por sus niveles de eficacia en las dos fases de investigación fueron Pch001V, YEB (J_2)T, P002P y P002P, por lo cual se puede recomendar su uso como una alternativa de manejo del nematodo en condiciones similares a las evaluadas.

Palabras clave: Control biológico, *Meloidogyne javanica,* Hongos nematófagos nativos, Naranjilla.

ABSTRACT

Naranjilla cultivation is of great economic importance for the eastern region of our country. The fruit is consumed fresh and in the industry is used as raw material for the production of juices, ice cream and other products. The cultivation is affected by a host of pests that intervene in the physiological processes of the plant causing partial or total loss of the crops. One of the most common problems is the formation of galls on the root caused by the nematode *Meloidogyne javanica*, with incidences of 79% and losses of up to 50% of production. This is a species that also affects other crops of National and World importance (Garcia and Obando, 2004; Sañudo *et al* 2003, Gelpud *et al* 2010: Betancourth *et al* 2011).

This problem has so far been controlled by the use of synthesised nematicides highly toxic to soil, water and air. Due to this situation, new environmentally friendly control alternatives have now emerged, one of them being biological control. This study evaluated the efficiency of 30 native fungi nematophagous isolates against *Meloidogyne javanica*, in *in vitro* conditions, out of which the top 10 were chosen for effectiveness trials under greenhouse conditions.

The *in vitro* evaluations showed parasitism on eggs from 4.8% to 58.9% and from 6% to 52.4% on J^2 larvae. In the greenhouse, statistically significant differences between the treatments for all the variables analysed were observed.

The morphological characterization of females, males and J^2 led to the conclusion that *Meloidogyne javanica* is the predominant species in the cultivation of naranjilla, the morphological characterization of fungal isolates in the micro cultures as well as the microscopic characterization of the vegetative and reproductive structures of the isolates, resulted in the taxonomic identification of the species *Purpureocillium*, *Pochonia*, *Trichoderma* and *Fusarium*. The tests led to the conclusion that the best insulation for their levels of effectiveness in the two phases of research were Pch001V, YEB (J2) T, P002P and P002P, which in turn led to the recommendation of its use as alternative nematode management in conditions similar to those evaluated.

Keywords: Biological Control, *Meloidogyne javanica*, native fungi nematophagous, Naranjilla.

1. INTRODUCCIÓN

La naranjilla *Solanum quitoense* Lam es una fruta tradicional del Ecuador, que se la cultiva en la región Oriental del país, siendo comercializada en el mercado interno y para la exportación en fresco como materia prima en la elaboración de jugos y pulpa, constituyéndose así en uno los rubros más importantes dentro de los productos tradicionales (Zambonino, 2012).

El 42.68% de la producción mundial del Lulo o Naranjilla durante el periodo 2005-2009 corresponde al Lejano Oriente, el 9,14% a América Latina y el Caribe; y el 48,18% alrededor del mundo distribuido en varios de países.

En el Ecuador existen 8.929 hectáreas de cultivo de naranjilla, 7.453 ha como mono cultivo y en asocio 1.476 ha. La superficie cosechada en mono cultivo es 5.169 ha, con una producción de 14.894 TM; distribuidas en las zonas amazónicas de Orellana, Napo, Sucumbíos, Morona Santiago, Zamora Chinchipe y Pastaza; el 10% en menor escala se cultiva en las provincias de Bolívar, Imbabura, Pichincha, Tungurahua (Zambonino, 2012).

Las enfermedades radicales de la naranjilla son un problema fitosanitario que más afecta al cultivo, específicamente la formación de agallas radicales causadas por el nematodo *Meloidogyne* spp.*;* que abarca una extensa gama de especies, como *M. incognita, M. hapla, M. arenaria,* y *M. javanica* entre otras, las cuales presentan una amplia distribución y rango de hospedantes. Los daños son irreversibles en el sistema radical de las plantas, además su alta capacidad reproductiva es la causa de incidencias alrededor del 79% y pérdidas del 50% (García y Obando, 2004; Sañudo *et al.* 2003, Gelpud *et al.* 2010: Betancourth *et al.* 2011).

Hasta ahora, el manejo de nematodos se realiza con nematicidas o fumigantes de suelo que por su composición química son tóxicos para los animales y plantas, e interfieren en su ciclo de vida, con efectos nocivos sobre el medio ambiente, la salud humana, los peces, los mamíferos y los organismos benéficos (Coast, 2008; Carrillo, 2013). La inadecuada gestión del uso plaguicida ha inducido resistencia de plagas y enfermedades por su capacidad de mutación, generando un problema de grandes

proporciones (Álvarez y Paccha, 2011). Razones que han motivado la búsqueda de nuevas alternativas de control.

En la presente investigación se determinó la presencia de *Meloidogyne javanica* y *Meloidogyne arenaria* asociadas a las nodulaciones de las raíces de los cultivos de naranjilla. En los ensayos *in vitro* e invernadero se evaluó la eficiencia del control biológico con aislamientos nativos de los géneros *Trichoderma*, *Purpureocillium*, *Pocchonia,* y *Fusarium,* sobre *Meloidogyne javanica* en condiciones de laboratorio e invernadero, y los resultados obtenidos permiten confirmar la efectividad de los aislamientos sobre huevos y larvas *in vitro* y la reducción de las poblaciones de larvas J_2 e índices de agallamiento con respecto al Testigo.

Los objetivos de esta investigación fueron:

- Determinar la especie de *Meloidogyne* predominante, asociado al cultivo de naranjilla en zonas productoras de la provincia de Zamora Chinchipe.

- Determinar la efectividad de 10 aislamientos de hongos nematófagos nativos frente a *Meloidogyne* spp. en la especie de naranjilla más susceptible, en condiciones *in vitro* e invernadero.

- Identificar taxonómicamente los hongos nematófagos de mayor efectividad contra *Meloidogyne* spp.

- Socializar los resultados de la investigación a nivel de agricultores, profesionales y estudiantes.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. HISTORIA E IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA NARANJILLA

La naranjilla *Solanum quitoense var quitoense.*es originaria de la zona ecuatorial suramericana, en el territorio que hoy ocupan los países de Ecuador, Perú y el sur de Colombia (Cruz *et al.* 2007), favorecido por la temperatura y la humedad de los Andes, era una planta silvestre mucho antes de su cultivo y comercialización. De estos países Ecuador ha sido el que más ha explotado este cultivo y su exportación a otros territorios.

A lo largo del último siglo, el cultivo de *Solanum quitoense* Lam., se ha incrementado en otros lugares que incluye a muchos países del Centro y Suramérica. A pesar del surgimiento de nuevos productores que rivalizan con los mercados constituidos en Colombia y Ecuador, como Costa Rica, los países suramericanos son los principales exportadores de esta fruta a Norteamérica (Cruz *et al.* 2007).

En las últimas décadas, debido a la necesidad de hacer más productivo su cultivo, se han buscado realizar mejoras genéticas, en Colombia, el desarrollo de la variedad “La selva” ha permitido cultivos resistentes a enfermedades y de mayor producción. Hoy en día casi todos los cultivos en Latinoamérica se realizan mediante semillas de origen *in vitro* (Cruz *et al.* 2007).

El Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria (INIAP), menciona que en nuestro país las variedades más cultivadas son: Baeza, Agria, Septentrional, Bola, Dulce Común, Baeza Roja y los Híbridos Puyo, INIAP - Palora y Mera; y se estima una superficie perdida por plagas y enfermedades de 405 ha, afectando de esta manera la economía del productor; en la mayoría de las zonas productoras de Centro y Suramérica, uno de los principales problemas lo constituyen los nematodos agalladores del género *Meloidogyne* los cuales afectan a las plantaciones causando daños en su sistema radicular, formando agallas o tumores que afectan a los haces vasculares de la planta impidiéndole la absorción de nutrientes y agua del suelo hacia la planta, provocando de esta forma la pérdida total del cultivo y la productividad (García *et al.* 2004;), citado por Crozzoli *et al.* (2012).

Los daños y pérdidas ocasionados por *Meloidogyne* spp., al igual que la mayoría de los nematodos fitoparásitos se incrementa en regiones con clima tropical debido a que se incrementa la diversidad de los patógenos; las condiciones para la colonización, desarrollo, reproducción y dispersión se ven favorecidas, además la falta de recursos humanos y financieros para el manejo de los cultivos incrementa el problema (De Weale y Elsen, 2007, Moens *et al.* 2009). La importancia de *Meloidogyne* se debe a su amplia distribución, por la gran capacidad que posee para sobreponerse a las condiciones ambientales desfavorables; al grado de parasitismo; y al tipo de reproducción partenogenética (Carrillo, 2013).

2.2. NEMATODO AGALLADOR DE RAÍCES DE LA NARANJILLA *Meloidogyne* spp.

Este género y sus especies son cosmopolitas y parásitos de muchas especies de plantas; tiene un rápido desarrollo y reproducción durante el ciclo del cultivo, lo que lo hace un nematodo que provoca graves daños. La hembra al alimentarse induce deformaciones típicas en la raíz llamadas agallas o nódulos debido a la modificación y crecimiento anormal de las células radicales (células gigantes), provocando diferentes grados de retraso en el crecimiento, perdida del vigor de la planta, además el tejido infectado es más susceptible de infección por otros patógenos (Perry *et al.* 2009).

2.2.1. Clasificación taxonómica de *Meloidogyne* spp.

Agrios (2005), clasifica a *Meloidogyne* spp. de la siguiente manera:

Phylum: NEMATODA

Orden: Tylenchida

Suborden: Tylenchina

Superfamilia: Tylenchoidea

Familia: Heteroderidae

Género: *Meloidogyne*

Especies: *M. incognita, M. arenaria, M. hapla, M. javanica, M. exigua, M. bravicauda, M. inornata, M. acronea* y otras especies.

2.2.2. Características morfológicas de *Meloidogyne* spp.

Las hembras adultas del género *Meloidogyne* son de formas redondeadas a piriformes, blancas, sedentarias, con un cuello corto que se proyecta, no tiene fase de quiste, el

extremo posterior la vulva y el ano están próximos, rodeados de un patrón cuticular característico “patrón perineal”, que presenta diferencias en las distintas especies, los fasmidios se abren con forma de poro a cada lado del ano levemente elevados, la cutícula es gruesa y estriada, el estilete es delgado entre 12-15 µm. con nódulos basales pequeños, el poro excretor está por delante del bulbo medio con frecuencia cercano a la base del estilete, los ovarios son dos, prodélficos, convolutos, y las glándulas rectales son seis de tamaño grande y segregan una sustancia gelatinosa en la cual se depositan los huevos que no son retenidos dentro del cuerpo de la hembra Williamson y Gleason (2003) citado por Marín (2012).

El macho es vermiforme de hasta 2 mm de longitud con el extremo de la región posterior curvado, la cutícula es fuertemente estriada con campos laterales con cuatro estrías longitudinales, la región labial es redondeada, poco prominente con un disco labial marcado y pocas estrías de una a tres, los sectores laterales son más anchos que los submedianos asemejándose a “mejillas”, el estilete es robusto de 18-25 µm. con nódulos basales grandes, las glándulas esofágicas están situadas principalmente en posición ventral, las espículas son delgadas generalmente entre 25-33 µm de longitud con el gubernaculo entre 7-11 µm de longitud, tiene un testículo o dos si hubo un desarrollo sexual revertido, la región posterior es redondeada con fasmidios como poros cerca de la abertura cloacal que es subterminal y no presentan bursa Williamson y Gleason (2003), citado por Marín (2012).

Los juveniles tienen diferente aspecto según el estadio. El J_1 tiene el término de la región posterior roma, realizando la muda dentro del huevo, la segunda y tercera muda se realiza dentro de la cutícula del J_2. El J_2 es vermiforme, posee capacidad migratoria, siendo el estado infectivo, el cuerpo es recto a arqueado en reposo, midiendo por lo general menos de 0,6 mm de longitud; la región anterior es generalmente redondeada con uno a cuatro estrías gruesas, un disco labial diferenciado y una estructura levemente esclerotizada; los sectores laterales son más anchos que los submedianos; el estilete es delgado de menos de 20 µm de longitud; el poro excretor está por detrás del hemizónido; la región posterior tiene una porción hialina claramente visible, con la punta angosta e irregular en el contorno. El J_3 es sedentario, hinchado y una región posterior corta y roma. El J_4 también es sedentario e hinchado, con el ano terminal Williamson y Gleason (2003), citado por Marín (2012).

2.2.3. Ciclo biológico y patológico

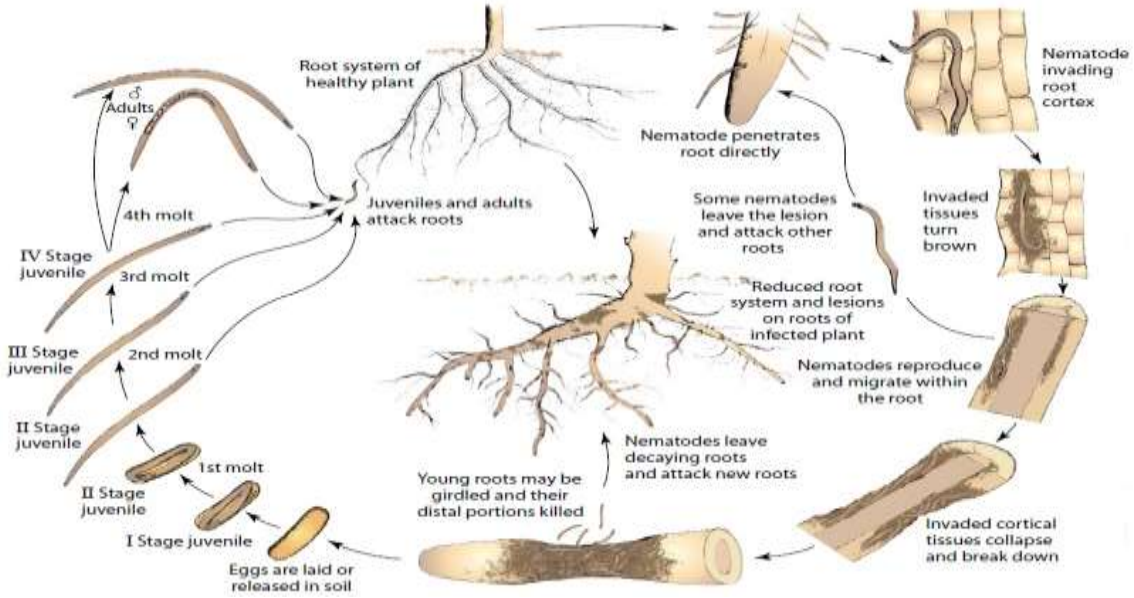


Figura 1. Ciclo de la enfermedad de la agalla de la raíz causada por nematodos del género *Meloidogyne javanica*.

El ciclo biológico de los nematodos del genero *Meloidogyne* comienza en el huevo, donde aparece la primera de las cuatro fases juveniles (J_1). Dentro del huevo tiene lugar la primera muda, emergiendo como segundo estadio juvenil (J_2), el cual posee capacidad migratoria y puede penetrar en los tejidos de la planta (fase infectiva). El estadio J_2 tiene energía suficiente para permanecer al menos un mes en la búsqueda y penetración de la raíz, estableciendo un sitio de alimentación. Al penetrar en la raíz se mueve intercelularmente, ingresando a la altura de la base del cilindro vascular y migrando hacia arriba. En la zona de diferenciación de la misma se vuelve sedentario y establece un punto de alimentación permanente. Este punto de alimentación se forma en respuesta a las secreciones que el nematodo inyecta a las células del hospedante, las cuales inducen varias divisiones nucleares sin citoquinesis, dando lugar a células grandes, multinucleadas, llamadas “células gigantes” Williamson y Gleason (2003), citado por Marín (2012).

Las células de la planta alrededor del lugar de alimentación se dividen e hinchan, lo cual se manifiesta externamente como nódulos “agallas”. El nematodo ingiere el citoplasma de las células gigantes derivadas de la planta a través de sus estiletes, ya que estas células gigantes funcionan como fosas metabólicas que canalizan los

recursos de la planta hacia el nematodo parásito. Luego pasa por las dos fases juveniles restantes (J_3 y J_4) hasta convertirse en adulto. Tanto el estadio J_2 como el adulto poseen un estilete, mientras que los estadios J_3 y J_4 pueden carecer de Williamson y Gleason (2003) citado por Marín (2012).

2.2.4. Distribución y diseminación

El nematodo agallador está distribuido en todo el mundo, aunque ocurre con mayor frecuencia y abundancia en regiones con clima cálido y tórrido e inviernos cortos y moderados. Sus requerimientos climáticos pueden ser agrupados en dos grupos: termófilos y criófilos dependiendo de su capacidad para sobrevivir y desarrollarse, considerando su temperatura basal de 10°C y a partir de la cual pueden completar su ciclo biológico, *Meloidogyne hapla* es criófila y tiene la capacidad de sobrevivir a temperaturas por debajo a los 10°C, a diferencia de *M. arenaria* y *M. javanica* que son termófilas y no sobreviven a temperaturas por debajo de los 10°C además de ser especies cuya eclosión es determinada principalmente por la temperatura (Curtis *et al.* 2009).

2.2.5. Síntomas y rango de hospedero

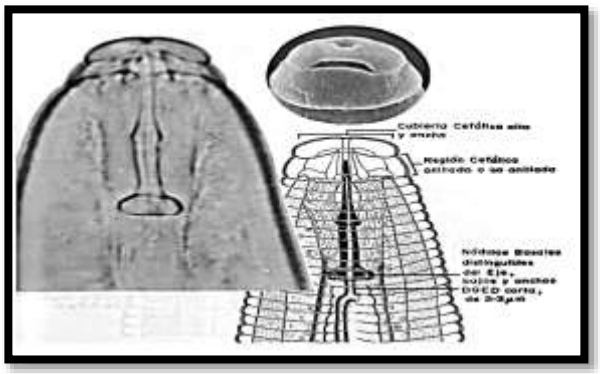
El síntoma más visible y de diagnóstico del nódulo de la raíz es la formación de agallas en las raíces secundarias que da nombre a la enfermedad. Masas de huevos de aproximadamente 0,5 a 1 mm de diámetro se encuentran en la superficie de las raíces con agallas, cuando se corta las agallas abiertas y maduras, las hembras aparecen como perlas blancas que a menudo son visibles en el tejido de la raíz. Las raíces infectadas son generalmente cortas y tienen pocas raíces laterales y pelos radicales (Ciancio, 2007).

Las larvas juveniles de segundo instar (J_2) inducen una serie de cambios en los tejidos radicales, como aumento en el tamaño de las células hipertrofia que se encuentran cerca de la cabeza del nematodo y la sobre multiplicación celular hiperplasia, que da origen a las agallas (Carrillo, 2013).

Por ser cosmopolita *Meloidogyne* spp parasita raíces de tomate *Solanum lycopersicum* L, tomate de árbol *Solanum betacea* Sendt, fréjol *Phaseolus vulgaris* L, col *Brassica oleracea* L, papaya *Carica papaya*, pimiento *Capsicum annuum* L., arveja *Pisum sativum,* haba *Vicia faba* L, tabaco *Nicotiana tabacum L*, babaco *Vasconcellea*

heilbornii, banano *Musa* sp*.,* alfalfa *Medicago sativa* L, guandul *Cajanus cajan*, maíz *Zea mays* L, maní *Arachis hipogea* L, rosas de invernadero, varias clase de flores de verano, naranjilla *Solanum quitoense Lam* y muchas malezas (Carrillo, 2013).

2.2.6. Características de *Meloidogyne javanica*



Descripción: Presenta 4 estadíos larvales o juveniles; el estadío J_1 lo cumple dentro del huevo, el estadío J_2 es el infectivo, que es el que está libre en el suelo; a partir de ese estadío la hembra comienza la fase de dimorfismo y se fija a la raíz de la planta. El ciclo de vida se completa entre 25 y 60 días en función de la temperatura del suelo. El estado de resistencia lo constituye el huevo y las larvas del segundo estadío (SENASA, 2010).

Daños y síntomas provocados en el hospedero: Los daños son producidos en la raíz donde forma agallas, debido a una hipertrofia e hiperplasia de los tejidos provocados por la presencia de las hembras, y una posterior necrosis, lo cual impide una normal absorción del agua y nutrientes por parte de la planta. Las heridas son vía de entrada de otros microorganismos (virus, bacterias, hongos). Todo esto conduce a una gran disminución del vigor de la planta y rendimiento del cultivo. Los síntomas más comunes que pueden verse en la parte aérea de los huéspedes son: clorosis, debilitamiento, enanismo, raquitismo, marchitamiento. Comienzan generalmente en plantas jóvenes y raíces tiernas (SENASA, 2010).

Condiciones favorables para el desarrollo de *M. javanica.*

Las temperaturas de 25 a 30ºC son ideales para el crecimiento y desarrollo de este nemátodo.Temperaturas inferiores a 15ºC o superiores a 33ºC interrumpen el desarrollo de las hembras que no llegan a completar la madurez (SENASA, 2010).

2.2.7. Técnicas de identificación de especies de *Meloidogyne.*

2.2.7.1. Cortes perineales

El estudio del patrón perineal proveerá una confirmación adicional sobre la identificación de las especies más comunes de *Meloidogyne.* Muchos investigadores montan de 4 a 10 patrones perineales en un portaobjeto.

Las raíces infectadas son colocadas en una solución al 0,9% de cloruro de sodio y las hembras son extraídas de las raíces bajo un microscopio de disección.

Las hembras son transferidas a una placa de plástico o un pedazo de plástico en una placa Petri de vidrio con Ácido láctico al 45% y la parte posterior es cortada con un bisturí de oculista o una aguja muy afilada.

Los tejidos del cuerpo son suavemente removidos con una pestaña o fibra flexible.

El patrón perineal es recortado y transferido a glicerina en un portaobjeto. Se coloca un cubre objeto y se sella con cera u otro sellador de cubreobjetos.

Los patrones perineales son formados por la expansión y alteración del cuerpo de las larvas y retienen las líneas laterales, la punta de la cola, y los fasmidios. Las líneas laterales se dirigen a la punta de la cola, *M. javanica* tiene las líneas características de esta especie. Las líneas laterales son más o menos visibles en otras especies, como una serie de interrupciones o irregularidades en las estrías Taylor y Sasser (1983).

2.2.7.2. Morfología de cabezas de machos

- **Morfología de cabeza de *Meloidogyne javanica*.**

Disco labial grande y liso, está fusionado con los discos medios, la cubierta cefálica es alta y casi tan ancha como la región cefálica. En esta especie es particular que la región cefálica no es anillada sin embargo algunas veces se puede observar dos a tres anillos Zuckerman *et al. (*1987*)*; Eisenback *et al.* (1980).

Estilete: El cono del estilete de los machos es angosto en su parte anterior y muy ancho en el extremo opuesto. El eje es cilíndrico; con frecuencia angostándose en su unión con los nódulos basales. Los nódulos basales, bajos y anchos son distinguibles del eje Zuckerman *et al. (*1987*);* Eisenback *et al.* (1980).

- **Morfología de cabeza de *Meloidogyne arenaria*.**

Cubierta cefálica baja y en declive hacia atrás; constituye una estructura lisa y continua que es casi tan ancha como la región cefálica es por lo general lisa y rara vez con uno o dos anillos incompletos Zuckerman *et al. (*1987*);* Eisenback *et al.* (1980).

Estilete: Cono del estilete puntiagudo y la abertura del lumen se distinguen por la presencia de una pequeña protuberancia en el lado ventral. La parte posterior del cono es muy amplia que la región anterior del eje. Por lo general, el eje es cilíndrico aunque en ocasiones su diámetro puede ser ligeramente más grande en la parte media. Los nódulos son grandes y emergen gradualmente del estilete, poseen dientes en su región anterior.

2.2.7.3. Medida de larvas J_2.

Para una medición exacta, la longitud de la larva es medida a lo largo de la línea central del cuerpo, por medio de una cámara lucida. Muchas larvas fijadas permanecen en una curva equivalente a un sexto de un círculo. La longitud verdadera de esas larvas es aproximadamente la distancia en línea recta que existe de la cabeza a la punta de la cola más un 5%. La línea recta puede ser medida por medio de un micrómetro ocular, y es suficientemente precisa para separar las larvas de *M. arenaria* (longitud promedio 0,47C mm) de las larvas de *M. incognita* (0,376 mm) y de las de *M. javanica* (0,370 mm). Las larvas de *M. hapla* (0,430 mm) pueden ser separadas de las larvas más largas de *M. arenaria* y de las larvas más cortas de *M. incognita y M. javanica* Taylor y Sasser (1983).

2.2.8. Técnica para aislamiento de larvas J_2

Las raíces infectadas son lavadas y cortadas en pedazos de aproximadamente 5 mm de largo. Una porción de 5 gramos se coloca en una licuadora (homogenizador, mezclador) con 500 mL de agua. La licuadora se corre a baja velocidad por 15 segundos. La suspensión resultante es pasada a través de un tamiz grueso (aberturas

de 1 mm) y de uno fino (aberturas de 0,010 a 0,030 mm), y luego se lava profusamente Taylor y Sasser (1983).

2.2.9. Técnica para aislamiento de huevos

Agitar en agua las raíces con las masas de huevos expuestas, y batir con una brocha o un pincel para separar las masas de huevos Taylor y Sasser (1983).

2.3. MÉTODOS DE CONTROL DEL NEMATODO AGALLADOR

Varios autores mencionan diferentes técnicas de control de *Meloidogyne* spp., entre los que se encuentran como primera alternativa el control químico, que resulta muy caro debido a las grandes extensiones de tierra que hay que tratar y que además todo esto depende de la toxicidad del producto a utilizar, otra de las alternativas utilizadas es el control cultural con cultivos trampa, rotación de cultivos, manejo de barbechos y cultivos resistentes al ataque (Barres *et al.* 2009).

2.3.1. Control físico

Consiste en la utilización de agentes físicos como la solarización, que es un proceso hidrotérmico que permite la desinfección de los sustratos utilizando el calor del sol, para esto se recomienda hacer eras de 20 cm de alto con sustrato completamente húmedo, los periodos de solarización son de 30 a 40 días dependiendo del clima (Lozano *et al.* 2007*).*

2.3.2. Control cultural

Se basa en la buenas prácticas agronómicas como son: la rotación de cultivos, cultivos en asocio con plantas repelentes, barbecho, siembra de cultivos trampa, utilización de plantas injertadas en patrón de *Solanum arboreum, S. hirtum y S. torvum,* que presentan resistencia a *Meloidogyne* spp*.,* además del híbrido Selva que presenta resistencia a los nematodos de este género.

Utilización de cultivos trampa como *Crotolaria,* sembrándola antes del inicio del cultivo, pues esta técnica elimina una gran cantidad de larvas infectivas, desinfectar el suelo con agua hirviendo, en cantidad de cuatro litros por metro cuadrado, además el control de arvenses susceptibles al ataque de nematodos (Lozano *et al.* 2007*).*

2.3.3. Control químico

En los últimos años el control químico de nematodos del suelo se realiza con Terbak 10 G, Nematon EC, NEEM - X, Furadan, Azidarachtina, Oxamil y para desinfectar el sustrato y los germinadores con productos nematicidas que contiene Dasomet, en dosis de 40 a 60 gramos por metro cuadrado, dejando tapado durante 15 días y luego dejar airear durante el mismo tiempo. En suelos cuyo contenido de materia orgánica sea menor del 3%, puede aplicar nematicidas con base en carbofuram, en dosis de 50 gramos por planta, o con base en Ethoprofos, en dosis de 20 gramos por planta, en el momento del trasplante y luego cada 3 meses (Lozano *et al.* 2007*).*

2.3.4. Control biológico

Consiste en la utilización de microorganismos naturales o modificados, para reducir los efectos de organismos patógenos, favoreciendo al mismo tiempo el desarrollo de los organismos útiles para el hombre, plantas y microorganismos beneficiosos. Para lograr el control biológico se pueden seguir tres vías: exploración en el propio medio de los agentes de biocontrol, introducción o liberación masiva de agentes de control y manipulación del ambiente para favorecer el desarrollo de los antagonistas naturales presentes en el mismo.

En la actualidad se admite la definición de control biológico como "el control biológico es la reducción de la intensidad o las actividades productoras de enfermedades de un patógeno o parásito, en su estado activo de resistencia o reposo, lograda de manera natural o a través de la manipulación del ambiente, del hospedador o de antagonistas del patógeno o plaga que se quiere controlar". Se trata de una definición muy amplia en cuanto al tipo de control fuera del químico y hace referencia a la utilización de microorganismos antagonistas para el control de enfermedades, entendiéndose por antagonistas, aquellos organismos que interfieren en la supervivencia o desarrollo de los patógenos.

2.4. CONTROL BIOLÓGICO DE *Meloidogyne* spp MEDIANTE HONGOS NEMATOFAGOS

2.4.1. *Pochonia chlamydosporia.*

El hongo nematófago *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams (ex *Verticillium chlamydosporium* Goddard), es un parásito facultativo de huevos de nematodos

formadores de quistes y agallas, presentes comúnmente de forma natural como saprofítico en una gran diversidad de suelos y agro-ecosistemas de todo el mundo (Gams y Zare, 2001). Entre las especies más estudiadas por sus potencialidades como Agente controlador biológico ACB se señala *P. chlamydosporia*, con sus variedades *chlamydosporia* y *catenulata*.

2.4.1.1. Clasificación taxonómica de *Pochonia chlamydosporia*

Gams y Zare (2001) informan la siguiente posición sistemática:

Reino: Fungi

Phylum: Deuteromycota

Clase: Hyphomydetes

Género: *Pochonia*

Especie: *Chlamydosporia*

2.4.1.2. Características morfológicas.

Para este género y las especies incluidas, Gams y Zare (2001), informaron las siguientes características: Colonias con crecimiento de 15-40 mm de diámetro de la colonia a los diez días en extracto de malta. Conidióforos usualmente postrados y pequeñas hifas diferenciadas, algunas veces erectas, fiálides verticiladas o solitarias y conidios de forma subglobosa, elipsoidal y bacilar. Producen dictioclamidosporas sobre la superficie de la colonia o sumergidas en el agar, cristales ausentes. Goddard (1913), señaló como característica más distintiva de la especie chlamydosporia la formación de clamidosporas, las cuales son más abundantes en el micelio viejo, que se torna a una coloración crema a ocrácea, mientras que el estado verticilado ocurre más abundantemente sobre micelio joven cerca del margen de la colonia.

La descripción dada por Gams y Bissett (1988) señala que las colonias sobre agar-malta son de color blanco a crema, u ocráceo pálido dada la presencia de clamidosporas, con micelio usualmente fino y fiálides emergiendo simples o en racimos de dos a tres, a partir de hifas postradas. También se presentan en racimos terminales de cuatro o cinco. Los conidios son subglobosos a ovoides o elipsoidales, midiendo 3 - 4,5 x 1,5 - 2,2 µm. Las clamidosporas, de 20 – 25 µm de diámetro, se producen abundantes sobre un pedúnculo en el micelio aéreo. Para el caso de la variedad catenulata, las colonias son similares, mientras que los conidios son subglobosos,

midiendo 2 - 3,5 x 1,7 - 2,5 µm, con su base, y en ocasiones el extremo, ligeramente puntiagudo, dispuestos en cadenas.

2.4.1.3. Modo de acción *Pochonia spp* sobre huevos de *Meloidogyne* spp. y proliferación.

En observaciones realizadas por Seger *et al.* (1996), sobre el proceso de infección de los huevos de *Meloidogyne* spp., demostraron que *P. chlamydo*sp*oria* forma una red de micelio en estrecho contacto con las masas gelatinosas (ootecas), produciéndose la penetración de los huevos a través de apresorios desarrollados al final de largas hifas o ramas laterales, donde se desarrollan tubos de penetración extremadamente finos y cortos, los que, inmediatamente después que penetran la cutícula de los huevos, se ensanchan.

López-Llorca (1992), observaron que *P. chlamydo*sp*oria* parasita huevos de nematodos formadores de agallas y quistes, formando apresorios que se adhieren a la cubierta del huevo. La forma y número de apresorios y la extensión de su crecimiento sobre la superficie del huevo están determinados por el nematodo hospedante. Luego se produce la penetración de la cubierta del huevo y la digestión del contenido del mismo (Jansson y López-Llorca, 2004).

La penetración de la cutícula de los huevos de *Meloidogyne* spp., por *P. chlamydo*sp*oria* es producto de la acción conjunta de la presión física y la actividad enzimática de tipo hidrolítica específica, correspondiente a enzimas como esterasas, proteasas de tipo serina, quitinasas y lipasas; que tienen un papel importante en la degradación de cada una de las láminas que conforman la estructura y composición química de la capa externa de los huevos (Morton y Col, 2003; Peteira, 2004). Además que *P. chlamydo*sp*oria* tiene la acción de producir metabolitos que frenan la acción de la eclosión de los huevos de nematodos.

Todos los estados de *P. chlamydo*sp*oria* ocurren en el suelo, las clamidosporas le permiten al hongo sobrevivir cuando el hospedante es escaso, hasta tres meses, mientras que la dispersión en el suelo producto del crecimiento de las hifas es muy limitada. No obstante, el hongo puede colonizar la rizosfera y proliferar en el suelo (Bourne y col., 1995), siendo más abundante en los orgánicos que en suelos minerales

con temperatura de 22 ºC (óptima para la espoluración *in vitro*), mientras que, después de una generación, la colonización de la rizosfera es mejor a temperaturas de 20 ºC, 25 ºC y 30 ºC.

2.4.2. *Purpureocillium (Paecilomyces* spp*)*

El género *Purpureocillium* presenta conidióforos ramificados, agrupados o irregulares, estos se encuentran en forma de cadena. Tiene un crecimiento rápido de sus hifas. Las colonias se desarrollan de 5 a 7 cm en 14 días a una temperatura de 25°C presentado un color lila. El rango óptimo de temperatura para su desarrollo va de los 26 a 30°C y un pH de 2 a 10 (Acosta, 2006).

2.4.2.1. Clasificación taxonómica de *Purpureocillium* spp

Samson (1974), clasifica a *Purpureocillium* de la siguiente forma.

Reino: Fungi
Filo: Ascomycota
Orden: Eurotiales
Familia: Trichocomaceae
Género: *Purpureocillium*
Especie: *variotii*, *lilacinus*.

2.4.2.2. Características morfológicas del genero *Purpureocillium*s pp*.*

El género *Purpureocillium* presenta hifas hialinas amarillentas septadas o sin septos, de paredes delgadas. La mayoría presenta ramificaciones verticiladas o irregularmente ramificadas, llevan en su parte terminal en cada rama grupos de fiálides, las cuales también pueden ser solitarias. Las fiálides constan de una porción basal cilíndrica o hinchada, adelgazándose abruptamente a menudo para formar un cuello muy notorio. Los conidióforos llevan cadenas de conidios; estos son hialinos unicelulares y de forma ovoide. (Bustillo, 2001).

Colonias en agar Czapek de crecimiento lento y limitado, alcanza un diámetro de 2.05, 2.5 a 3 cm en 7 días a 25ºC, con borde irregular. Colonias redondas blancas, algodonosas, con centro en relieve o colonias de superficie vellosa, aterciopeladas, con colores verdes (gris verdoso, verde claro, y verde oscuro) y lilas o purpura, el reverso de la colonia puede ser incoloro con matices de color amarillo, no presenta exudación,

también pueden presentar algunas especies exudaciones de color amarillo brillante, pueden presentar conidióforos tabicados de paredes lisas y ramificados en sus extremos triverticilado o cuatriverticilado, con métula usualmete cortas (6-8.0 x 2.5-3.0 um) y fiálides con el ápice puntiagudo de 5.0-6.0 x 2.0 um, de donde nacen los conidios lisos o equinulados, elipsoidales de 2.5-3.5 um, formando cadenas, sin ramificar, con aspecto característico de pincel.

También se pueden encontrar dependiendo de la especie conidióforos de paredes rugosas, hialinas que se dividen en dos ramas de las cuales se ven apresadas contra el eje y luego son levemente divergentes, producen cadenas cortas de conidios elípticos, 3.5-3.0 um, con los extremos puntiagudos, de paredes lisas. Presenta fiálides en grupos de 2 a 3, notablemente diferentes, 10-15 x 3.5-4.0 um con ápices relativamente largos y angostos (Arias y Piñeros, 2008).

2.4.2.3. Modo de acción de *Purpureocillium lilacinus.*

Mukhtar *et al.* (2013) indican que las hifas de *P. lilacinus* penetran fácilmente la cáscara de los huevos de *M. arenaria*, los cuales una vez invadidos se hinchan como resultado de la alteración de permeabilidad de la pared y sufren una serie de cambios estructurales. Por su parte Brand *et al* (2004), señalan que la capa vitelina se divide en tres membranas separadas, la capa de quitina se torna vacuolada y la capa lipídica desaparece, provocando la destrucción del embrión. En la mayoría de los casos el hongo no sólo ataca las masas de huevos, sino también penetra en el cuerpo de las hembras adultas oviponentes y las destruye.

Kiewnick y Sikora (2005) indican que este hongo presenta varios mecanismos de acción, pero el principal está asociado al ataque en etapas sedentarias, en particular a los huevos de nematodos enquistados o sedentarios, produciendo leucinotoxinas, quitinasas, proteasas y ácido acético, compuestos directamente relacionados con el proceso de infección; se ha demostrado que *P. lilacinus* penetra directamente todos los estados del nematodo luego de la formación del apresorio. Después de la adhesión *P. lilacinus* forma un apresorio para adherirse a la superficie de acogida y lograr la penetración. Esta estructura libera enzimas, secretadas para degradar los sustratos adyacentes con lo que establece un punto de infección mucho más estrecho y así lograr la penetración del huésped (Gunasekera *et al.* 2002).

2.4.3. *Fusarium* spp.

Los hongos del género *Fusarium* tienen una amplia distribución en el mundo y una gran importancia desde el punto de vista agrícola y económico. Su ocurrencia es cosmopolita y las diversas especies son comunes en el suelo, en el aire y en el agua. Muchas especies del género *Fusarium* tienen una gran capacidad de ocasionar enfermedades en distintos tipos de plantas cultivadas.

Algunas especies del género *Fusarium* son benéficas en la agricultura y se han utilizado en el control biológico de ciertas enfermedades causadas por especies patogénicas, principalmente de aquellas pertenecientes a la especie *Fusarium oxysporum* y nematodos. Algunas especies se han utilizado como micoherbicidas, por su potencial para destruir algunas malezas (Gómez, 2008). En el género *Fusarium* se han reconocido entre nueve y 78 especies, dependiendo del sistema taxonómico utilizado, el cual se basa principalmente en las características culturales de las colonias y de las esporas del hongo. La clasificación taxonómica del género es bastante controvertida según diversos taxónomos. Snyder y Hansen y Messian y Cassini reconocen nueve especies, Gordon considera 26 especies, Booth 44 especies, Wollenweber y Reinking 65 especies y Gerlach reconoce 78 especies (Gómez, 2008).

2.4.3.1. Clasificación taxonómica de *Fusarium* spp

El género *Fusarium* spp. Taxonómicamente, se clasifica de la siguiente manera (Messiaen, 1989citado por Gómez, 2008).

Reino: Fungi
División: Ascomycota
Subdivisión: Pezizomycotina
Clase: Sordariomycetes
Orden: Hypocreales
Familia: Hypocreaceae
Género: Fusarium
Especies: *F. oxisporum, F. acuminatum, F. avenacearum, F. foetens, F. fujikuroi, F. graminearum, F. guttiforme, F. lactis, F. lateritium, F. begomidae, F. circinatum, F. culmorum, F. denticulatum, F. equiseti, F. mangifera, F. musarum, F. napiforme, F. nygamai, F. poae, F. proliferatum, F. solani, F. subglutinans, F. udum, F. verticillioides.*

2.4.3.2. Características morfológicas del género *Fusarium*

La clasificación morfológica en el género *Fusarium* se basa en las características macro y microscópicas del cultivo. El tipo de micelio aéreo, pigmentación y tasa de crecimiento de la colonia, así como la ausencia o presencia de esporodoquios, esclerocios o estroma en diferentes medios son características básicas de identificación. El color que desarrollan depende de la especie, y puede ser blanco, crema, rojo, purpura, etc. El micelio aéreo suele ser abundante. El medio de cultivo agar papa glucosado (APG) es el más utilizado en la observación de estas características.

Las especies del género pueden producir tres tipos de esporas asexuales llamadas macroconidios, microconidios y clamidosporas. El macroconidio es la espora principal en la caracterización, su forma y tamaño varían según la especie. Los macroconidios pueden originarse a partir de estructuras especializadas, los esporodoquios, como así también en monofiálides, polifiálides o directamente a partir del micelio aéreo. La presencia de una célula basal en forma de pie se considera característica de *Fusarium* spp. El microconidio es un carácter taxonómico primario y se considera su presencia o ausencia. Si está presente las características consideradas son forma, modo de formación, si están solos, en falsas cabezas, cabezas o cadenas. Pueden formarse en el micelio aéreo a partir de mono o polifiálides pero no en esporodoquios.

La identificación requiere de una cuidadosa observación y un grado de conocimiento de taxonomía para distinguir los patógenos a nivel de especie y un creciente interés en la obtención de métodos más sensibles para la identificación de especies de Fusarium en el material vegetal infectado, incluyendo las técnicas que implican el diagnóstico molecular (INTA, 2007).

2.4.3.3. Modo de acción de *Fusarium* spp.

Se ha demostrado que las cepas no patogénicas de *Fusarium* spp., tienen tres modos de acción; competencia por nutrientes en la rizósfera, competencia por la infección de sitios en la rizósfera y la inducción de resistencia, estas cepas no patogénicas han sido ampliamente documentadas como antagonistas de los nematodos fitoparásitos, lo cual llevan a cabo a través de metabolitos producidos por esta especie que provocan la muerte de los nematodos en diversos cultivos (Morales 2014). Chaves (2007), encontró cepas no patogénicas de *F. oxy*sp*orum* como endofíticos naturales y han sido

detectados en el sistema radical de diferentes cultivares en varios países, algunas de ellas ya han demostrado su habilidad de afectar positivamente la salud y productividad de las plantas.

2.5.3. Trichoderma spp.

Es un género de hongos que se encuentran en los suelos de todas las zonas climáticas del mundo y son importantes descomponedores de materiales leñosos y herbáceos. Es un hongo invasor oportunista, que se caracteriza por su rápido crecimiento, por la capacidad de asimilar una amplia gama de sustratos y por la producción de una variedad de compuestos antimicrobianos. Algunas cepas han sido explotadas como ACB de patógenos, incluyendo hongos y nematodos, mediado por la producción de enzimas de degradación de la pared celular, como: celulasas, quitinasas, glucanasas, entre otras, y la producción de antibióticos. También, han sido usadas en biorremediación, por su capacidad de degradar hidrocarburos, compuestos clorofenólicos, polisacáridos y los plaguicidas, utilizados en la agricultura (Vinale *et al.* 2006). La rápida velocidad de crecimiento, esporulación abundante y rango amplio de sustratos sobre los que puede crecer, hace que sea muy eficiente como saprófito y cuando se usa como agente biológico (Martínez *et al.* 2007).

Igualmente, se considera estimulador del crecimiento vegetal (Leandro *et al.* 2007) e inductor de resistencia sistémica, debido a que modula o estimula algunas respuestas en la planta (Howell, 2006).

2.5.3.2. Clasificación taxonómica de *Trichoderma.*

Según Samuels (2005) el género *Trichoderma* spp, se clasifica de la siguiente manera:

Reino: Mycetae

División: Eumycota

Subdivisión: Ascomycotina

Clase: Euascomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocraceae

Género: *Trichoderma e Hypocrea*

Especies: *T. aggressivum, H. andinensis, T. arundinaceum, T. asperellum, T. atroviride, T. aureoviride, T.brevicompactum, H. ceramica, T. citrinoviride, T. citrinoviridex, T.*

*crassum, H. cremea, H. cunei*spora*, T. erinaceum, H. estonica, T. fasciculatum, T. fertile, T. gamsii, T. ghanense, T. hamatum, T. harzianum. T. koningii, T. koningiopsis, T. longibrachiatum, T. minuti*sporum*, T. a*sperellum*, H. neorufa, H. nigrovirens, T. oblongi*sporum*, T. ovali*sporum*, H. patella, T. pleuroticola, T. poly*sporum*, T. pseudokoningii, T. pubescens, T. reesei, T. saturni*sporum*, H. semiorbis, T.* sp*irale*, H. stilbohypoxyli, T. strictipile, T. strigosum, T. stromaticum, H. surrotunda, T. tomentosum, T. virens, T. viride, T. viridescens (Samuels et al. 2010).*

2.5.3.3. Características morfológicas del genero *Trichoderma* spp.

Las características de la colonia pueden ser distintas y propias de una determinada especie. Sin embargo, la apariencia de la colonia es difícil de describir de manera precisa y forma parte fundamental para la identificación. Generalmente son de colores verdes, amarillos o blancos. Algunas especies tienen la capacidad de producir pigmentos que tiñen el medio, pudiéndose observar en la parte interna del agar, especialmente si es PDA (Samuels *et al.* 2010).

2.5.3.4. Condiciones favorables para *Trichoderma* spp.

Trichoderma es un hongo anaerobio facultativo que se encuentra en suelos agrícolas y otro tipo de medios. Se puede desarrollarse en suelos con alto contenido de materia orgánica, restos de cosecha, sobre madera, donde exista abundante presencia de raíces o en sitios con predominio de hongos fitopatógenos, pudiéndose adaptar satisfactoriamente a condiciones climáticas extremas (Gams y Bissett, 1998).

El espectro de luz influye en el desarrollo de *Trichoderma*, fundamentalmente sobre la esporulación. Las colonias del hongo que se desarrollan bajo condiciones de luz alterna, son blancas y algodonosas al inicio y después tonadas concéntricas, alternando una banda delgada hialina con otra ancha de color verde oscuro, mientras que bajo luz continua son uniformes de color verde oscuro. La luz influye además, en la producción de metabolitos secundarios (Rodriguez *et al.* 2013)

Es importante para que el hongo se desarrolle más rápido, un suelo posea un pH que oscile entre 5.0 a 6,5, es decir, que puede adaptarse a suelos más o menos ácidos, y que tenga la capacidad de tolerar a los químicos o al calor que se puede aplicar al suelo, para garantizar su sobrevivencia. El desarrollo de *Trichoderma* se activa con la

presencia de la humedad, con óptimo de 60% de la capacidad de retención de humedad del suelo. A porcentajes mayores de saturación, la colonización y sobrevivencia disminuyen por baja disponibilidad de oxígeno (Rodríguez *et al.* 2013).

Trichoderma puede estar influenciado por la temperatura del suelo en términos de su distribución mundial. *T. harzianum* generalmente es aislado de suelos cálidos mientras que *T. poly*sp*orum y T. viride* se encuentran mayoritariamente en regiones temperadas-frías y *T. hamatum y T. koningii* están ampliamente distribuidas en áreas que poseen una diversidad climática. El rango de temperaturas en las que pueden crecer es bastante amplio; puede ser tan bajo como 0°C en el caso de *T. poly*sp*orum* y tan alto como 40°C para *T. koningii*. Además de afectar el crecimiento de *Trichoderma* spp*.*, la temperatura puede afectar también su actividad metabólica como la producción de antibióticos volátiles y enzimas (Bourguignon, 2008).

Esta capacidad de adaptación a diversas condiciones medioambientales y sustratos confiere a *Trichoderma* spp. la posibilidad de ser utilizado en diferentes suelos, cultivos, climas y procesos tecnológicos (Páez *et al.* 2007).

2.5.3.5. Mecanismos de parasitismo de *Trichoderma* sobre nematodos fitopatógenos.

Los mecanismos de acción de los agentes del género *Trichoderma* son utilizados para el control de un amplio número de patógenos del suelo, dada su versatilidad, adaptabilidad y fácil manipulación. Se conoce varios mecanismos de parasitismo sobre nematodos según las especies de Trichoderma. Por ejemplo, la efectividad de *Trichoderma harzianum* en la disminución de los daños y control de poblaciones de *Meloidogyne* spp, puede afectar a los nematodos formadores de agallas de dos modos: parasitismo directo en juveniles de segundo estado y parasitismo en huevos, por acción de metabolitos tóxicos que produce.

Las especies nematófagas de *Trichoderma*, poseen la capacidad de envolver al nematodo en micelio, y produce metabolitos que actúan como nematicidas, tales como trichodermin, suzukacilina, alameticina, dermadina, entre otros (Rey *et al.* 2000; Howel, 2003; Pocasangre *et al.* 2004). Los mecanismos de acción de biocontrol y la reacción con el patógeno son muchos y complejos. Son influenciados por el tipo de suelo,

temperatura, pH y humedad de la planta y el ambiente del suelo, además por la presencia de otros microorganismos. Se conocen cuatro principales mecanismos de control biológico: antibiosis, competencia, parasitismo o lisis, resistencia inducida (Kaewchai *et al.* 2009).

Antibiosis, consiste en la producción y liberación de sustancias químicas como metabolitos específicos y no específicos o antibióticos, ejerciendo un efecto adverso (inhibición o destrucción) sobre otros microorganismos. Los antibióticos tienen efecto sinergético cuando se combinan con varias enzimas degradativas de la pared celular produciendo una fuerte inhibición de muchos fitopatógenos, Kaewchai *et al.* (2009). *Trichoderma* spp. produce sustancias como: 6-pentil-α-pirona (6-PAP), trichordermina, dermadina, suzukacilina, alameticina, trichotoxina, acetaldehído, viridina, viridiol, gliovirina, gliotoxina y ácido heptelídico; así como las enzimas β-1,3 glucanasa, quitinasa y celulasa, las cuales facilitan la habilidad antagonista para atacar un amplio rango de patógenos ejerciendo su efecto sobre las paredes celulares (Infante *et al.* 2009).

Competencia, se presenta cuando el espacio y nutrientes son un factor limitante. La competencia puede dividirse en competencia saprófita por nutrientes en el suelo y la rizosfera, y competencia por sitios de infección sobre y dentro de la raíz Kaewchai (2009). La competencia por nutrientes puede ser por Nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina y pectinas, entre otros) y microelementos (Infante *et al.*2009). Las especies de *Trichoderma*, aplicadas al suelo o a las semillas, crecen fácilmente junto con el desarrollo del sistema radicular de la planta tratada. La competencia depende de las características del agente biocontrolador tales como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, así como de factores externos como el tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros (Howell, 2003; Infante *et al.* 2009).

Adhesión mecanismo mediante el cual las hifas se adhieren al hospedante mediante la formación de estructuras similares a ganchos y apresorios (Infante *et al.* 2009). Inducen cambios morfológicos como el enrollamiento alrededor del hospedero, desarrollo de apresorios por parte de *Trichoderma* y productos de degradación de las paredes celulares como quitinasa. Además, las lectinas inducen el enrollamiento sólo

al contacto físico, mientras que partes del sistema enzimático quitinolítico son inducidas antes del contacto directo entre *Trichoderma* y su hospedero (Infante *et al.* 2009).

2.6. Trabajos realizados con Hongos nematofagos en condiciones *in vitro* e invernadero

Padilla *et al.* (2014), Evaluaron el parasitismo *in vitro* de 14 aislamientos de hongos nematofagos (6 *Trichoderma* sp., 4 *Paecelomyces* sp., 2 *Fusarium oxi*sp*orum*, y 2 *Monacro*sp*orium*.) en juveniles y huevos del nematodo agallador *Meloidogyne javanica*., encontrándose los mejores resultados en los tratamientos con el género *Trichoderma* con un rango de 13 a 79% de parasitismo en juveniles, en huevos el parasitismo resultó en un 95 a 96%. En el caso de *Paecelomyces* presentó parasitismos en juveniles de 34 a 43% y en huevos del 48 a 59%. Con *Fusarium oxi*sp*orum* parasitismos entre 38.5 y 52.5 % tanto en juveniles como en huevos. El aislamiento de *Monacro*sp*orium* generó un parasitismo bajo de 1 a 18% sobre juveniles y huevos.

En estudios realizados por Dávila e Hío (2005), al probar la actividad biocontrolador de *Artrobotrys* sp *y Paecilomyces* sp*,* en condiciones *in vitro* sobre larvas y huevos de *Meloidogyne javanica.,* obtuvieron un índice de parasitismo mayor al 50%.

Sharon *et al.* (2001), probó a *Trichoderma harzianum*, por su potencial para controlar el nematodo *Meloidogyne javanica*; en invernadero todas las cepas mostraron la capacidad de colonizar huevos de *M. javanica* y J_2, en los ensayos *in vitro* la caracterización de la actividad de todos los extractos de las cepas de *Trichoderma* provenientes de J_2 de suelos mostraron resistencia al calor de la incubadora, lo cual sugiere que la actividad proteolítica del antagonista puede ser importante para el control biológico de los nematodos.

Del Busto (2009) y otros investigadores, evaluaron la efectividad de tres alternativas para el control de nematodos agalladores como: utilización de melaza de caña de azúcar, gallinaza más aserrín de pino y el hongo Entomopatógeno *Trichoderma viride* (Cepa C-66), además de utilizar el *Bromuro de Metilo*, como testigo, los niveles más bajos de población se obtienen a los 45 días, apareciendo con los mejores resultados las réplicas tratadas con *T. viride,* Cepa (C- 66); y en particular donde se aplicó a una dosis de 9 kg/ha. Los mejores tratamientos en cuanto a nivel de eficiencia, se obtienen después de *T. viride*, Cepa (C-66) a dosis de 9 kg/ha, la mezcla de gallinaza aserrín a una proporción de 378+252 kg/túnel y por último la melaza con dosis de 10 l/ha,

comportándose todas estas alternativas a la dosis mencionada con mayor efectividad que el empleo del *bromuro de metilo* al terminar los muestreos realizados a las diferentes replicas.

Díaz (2010) observó en su investigación realizada con *Pochonia chlamydo*sp*oria* var *cenatula* que ninguno de los tratamientos impidió el establecimiento de *M. incognita* y la manifestación de sus daños en la planta expresados por el índice de agallamiento. Está demostrado que *P. chlamydo*sp*oria* no reduce las afectaciones por nematodos formadores de agallas inmediatamente después de su aplicación ya que su efectividad en el control está dada por su capacidad de colonizar masas de huevos externas y parasitar los huevos de esta especie. Su efecto podrá verse en la disminución de la población en las generaciones siguientes, tal y como se observó con la disminución de juveniles en el sustrato, respecto al control.

Dávila *et al.*(2005) evidenció que *Arthrobotrys* sp., desarrolló crecimiento micelial en forma de pequeñas argollas que causaron ulceraciones sobre los nematodos en estado larval. En los tratamientos con *Paecilomyces* sp., se observó crecimiento micelial sobre el cuerpo de los nematodos y rompimiento de la cutícula de los huevos, con posterior crecimiento micelial en su interior.

En estudios realizados por Salazar, Betancourth *et al.* (2012), con tratamientos de *Paecilomyces lilacinus* en dosis de $1*10^6$-300cc, $10*10^7$-20cc, Testigo comercial (Carbofurán), y *Beauveria bassiana* $1*10^6$-40cc, $1*10^7$-40cc, los mejores resultados según el análisis de varianza, corresponde al tratamiento de *Paecilomyces* sp. $1x10^6$ - 20 cc y el producto químico Carbofuran obtuvieron los valores más bajos de severidad (grado 1), la planta presenta nudosidades leves. Los valores más altos de severidad, por encima del 50% se obtuvieron con el tratamiento de *Beauveria* sp*.* 1x107 a una dosis de 40 cc y el tratamiento testigo, con deterioro considerable de la raíz y su función.

Regaieg y otros investigadores (2011) utilizaron tres cepas de *Verticillium leptobactrum* procedentes de masas de huevos de nematodos agalladores de *Meloidogyne* spp. y evaluaron el potencial del control biológico de hongos en la segunda etapa de juveniles (J_2) y los huevos de M. incognita, *in vitro* demostraron que *V. leptobactrum* es un parásito de nematodo eficiente. En invernadero con plantas de tomate parasitadas por *M. incognita y M. javanica, V. leptobactrum* se comparó con los aislamientos de

*Pochonia chlamydo*sp*oria* sp*. Monacro*sp*orium*. Con la introducción de los propágulos en suelos libres de nematodos o infestadas de forma natural se observó la mejora de crecimiento de las plantas con un aumento significativo de la longitud de raíces de tomate, el menor parasitismo se manifestó en J_2 del suelo y masas de huevos. En un segundo ensayo con *M. javanica,* los tratamientos con tres *V. leptobactrum* aislados redujeron tanto las masas de huevos en las raíces así como la densidad de J_2 y el número de agallas.

Cruz (2007), evaluó para el control de *Meloidogyne* sp*.,* en el cultivo de okra americana (*Abelmoschus esculentus*) los tratamientos Micorrizas vesiculo arbuscular (VAM) 3 g al semillero y 30 g en el trasplante, *Trichoderma harzianum* 3×10^{11} conidias en 240 g/ha*, Paecilomyces lilacinus* 8×10^{11} conidias en 240 g/ha*, Pochonia chlamydo*sp*oria* 3×10^{9} clamidiosporas al trasplante *y* Marigold (*Tagetes erecta*) sembrado en asocio dos plantas y el control al cual no se aplicó nada. Los tratamientos de *Paecilomyces lilacinus, Pochonia chlamydo*sp*oria, Trichoderma harzianum,* VAM y Tagetes erecta redujeron la población de *Meloidogyne* spp., en 78, 76, 41, 38 y 10%, respectivamente, mientras el control mostró un aumento en 33%. El promedio de altura en el tratamiento con Tagetes erecta fue menor por la alta competencia comparado con el resto de tratamientos. Se encontró un número menor de nódulos en el tratamiento de *Paecilomyces lilacinus, Pochonia chlamydo*sp*oria y Tagetes erecta*; Las plantas con VAM, *Paecilomyces lilacinus y Pochonia chlamydo*sp*oria* obtuvieron el mayor peso de materia seca de raíces y mayor producción por hectárea.

Torres (2014), probó 2 cepas de *Pochonia chlamydo*sp*oria var chlamydo*sp*oria,* obtenidas de suelo y raíz de plantas de guayabo, las mismas que presentaron parasitismos del 83 y 89% sobre huevos de *Meloidogyne* spp*.*

Solano *et al. (2014).* Menciona que con el objetivo determinar el efecto de varios aislamientos autóctonos de los hongos *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams (Hypocreales: Clavicipitaceae) y *Purpureocillium lilacinum* Luansa-ard *et al.* (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae) en el control de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood, en tomate, en condiciones de campo. Se utilizaron seis aislamientos fúngicos y un control sin aplicación, distribuidos según un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas. Las aplicaciones de los hongos lograron reducir el índice de

agallamiento por *M. incognita*, así como las poblaciones de juveniles infestivos (J_2) en el suelo y en las raíces del cultivo, a la vez que se observó un estímulo en las variables agronómicas número de frutos, masa de los frutos y rendimiento agrícola.

Mendoza (2010), al realizar un estudio *in vitro* para seleccionar hongos biocontroladores de *Meloidogyne incognita.,* encontró que los microorganismos que alcanzaron hasta un 50% de control de los nematodos fueron, *Trichoderma a*sp*erellum, Hypocreavirens* cepa 1, M33A1, *Paecilomyces* sp*., Hypocrea virens* cepa 2, G9, M34C1 y M45A1.

En la investigación realizada por Cardona *et al.* (2013), al evaluar *in vitro* el efecto del filtrado crudo de *Purporeocillium* sp*.* (Cepa UdeA0106) sobre la eclosión de huevos y los estadios juveniles de *Meloidogyne* spp*.,* probaron concentraciones de filtrado al 100, 90, 70, 50, 25 y 10%, encontrando diferencias significativas en todos los tratamientos pero el correspondiente al filtrado puro al 100% logró mantener el porcentaje más bajo de eclosión y movilidad de los J_2 en un 96.8%.

Estudios realizados por Salazar *et al*(2012), al probar *Beauveria bassiana, Metarhizum anisopliae y Paecilomycies lilacinus,* en concentraciones de $1x10^6$ hasta $1x10^9$ y tres dosis de aplicación 20, 30 y 40 cc, para el control de *Meloidogyne* spp*.,* en el cultivo de naranjilla, demostraron mediante análisis estadístico que el tratamiento donde se obtuvo el menor índice de severidad (<1) y los más altos rendimientos promedio por hectárea fue el de *Paecilomyces lilacinus.,* con la concentración de $1x10^6$ y 30cc.

Mendoza *et al.* (2013), determinó el efecto destructor de *Trichoderma artroviride, T. harzianum y T. viridi* sobre huevos de *Meloidogyne* spp*., in vitro* observando que los tratamientos son positivos.

Requene (2013), probó microorganismos antagonistas contra *Meloidogyne* spp*.* de manera individual o en combinaciones de *Paecilomyces lilacinus* con *Trichoderma harzianum,* al analizar los compuestos excretados por los hongos *T. harzianum y P. lilacinus* en los cultivos *in vitro* se confirmó su actividad nematicida en un 95% de mortalidad de J_2. Los extractos concentrados metabólicos de las suspensiones miceliares de *T. harzianum* produjeron una mortalidad del 100% de los J_2.

Puertas *et al.* (2007) determinaron que el efecto de diferentes concentraciones de inóculo de la cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydo*sp*oria var. catenulata* sobre la colonización del suelo, raíces y la actividad parasítica del hongo sobre *Meloidogyne*

incognita en un experimento con macetas en condiciones de aisladores biológicos , los niveles de colonización en suelo y raíces del cultivo del tomate aumentaron con el incremento de la concentración de inóculo de *P. chlamydo*sp*oria* var. *catenulata* a diferencia de la actividad parasítica, que aunque manifiesta un incremento rápido tiende a estabilizarse a partir de niveles del hongo en suelo y raíces que se corresponden con una concentración de inóculo de 5000 clamidosporas. g^{-1} de suelo, siendo la mínima de inóculo efectiva para el control de nematodos formadores de agallas.

Puertas e Hidalgo (2009), al estudiar el efecto de la aplicación de la cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydo*sp*oria var cenatula* sobre su abundancia en el suelo y la rizosfera, así como su capacidad para colonizar las masas de huevos y el parasitismo de los huevos de *Meloidogyne incognita* en el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum L*.), con el objetivo de perfeccionar el uso práctico de este agente de control biológico. Los resultados demostraron que la colonización del sustrato y raíces, así como la capacidad parasítica de *P. chlamydo*sp*oria var. catenulata* fueron superiores con la aplicación del hongo al sustrato en el trasplante. No obstante, la aplicación al sustrato del cepellón permitió que los niveles de colonización alcanzados en las raíces del cultivo del tomate por *P. chlamydo*sp*oria var. catenulata* proporcionaran un 60% de parasitismo en huevos, aspecto a tener en cuenta cuando los niveles de infestación por *M. incognita* sean bajos o se deseen realizar aplicaciones preventivas.

Baños *et al.* (2010), con el objetivo de reducir los niveles de infestación de *Meloidogyne* spp., en el cultivo de tomate de mesa, evaluó el efecto de gallinaza (2,4 kg/ha), melaza (10 l/ha) y *Trichoderma* spp. (9 kg/ha), comparado con un testigo sin tratar. Como resultados, se redujo significativamente el grado de infestación de *Meloidogyne* spp., en el cultivo a los 80 días después del trasplante, siendo más efectivos *T. viride* y *T. harzianum* con reducciones de 2.0 y 1.94 grados, las aplicaciones de *T. viride, T. harzianum*, melaza y gallinaza mostraron un efecto estimulante sobre los parámetros morfológicos, fisiológicos y productivos del cultivo de tomate, resultando en rendimientos de 47.05, 46.56, 38.75 y 34.99 t/ha respectivamente, con diferencias significativas sobre el testigo (26,81 t/ha). Se obtuvo incrementos en la producción superiores al 30 %, en todos los tratamientos justificándose los gastos de aplicación.

Moura *et al.* (2011) realizó un estudio con *Trichoderma harzianum* cepa ESALQ-1306 para el control biológico de *Meloidogyne incógnita* raza 4 en pepino bajo condiciones

in vitro y en invernadero. *In vitro*, se observó un 64% de parasitismo de conidios en huevos e inmovilización de juveniles de la segunda etapa por el hongo. En invernadero, las plantas se trataron con diferentes concentraciones de las suspensiones de conidios antes y después de la inoculación con *M. incognita*. Después de 60 días, el tratamiento más eficaz proporcionó alrededor del 50% de reducción del nematodo con tres aplicaciones secuenciales de *T. harzianum*; sin embargo, el hongo no aumentó el peso de la raíz fresca y seca.

Romero (2004) al probar el hongo *Paecilomyces lilacinus* contra *Meloidogyne* spp. en plantas de pepino, en aplicaciones de *P. lilacinus* en siembra, al trasplante, siembra/trasplante, a los 10 días del trasplante, siembra/10 días del trasplante, trasplante/10 días del trasplante, el testigo químico con Oxamyl y el testigo absoluto que no recibió ninguna aplicación, dando como resultados la menor cantidad de nódulos en los tratamientos con Oxamyl, *P. lilacinus* en siembra/trasplante, siembra/10 días del trasplante y al trasplante/10 días del trasplante; con este último también se obtuvo mayor longitud de raíces en comparación con el testigo absoluto y aplicación de *P. lilacinus* a los 10 días del trasplante; con Oxamyl se controló 86% de *Meloidogyne* y las aplicaciones de *P. lilacinus* que tuvo mejor control fue en siembra y trasplante (74%).

Romero (2009), Al probar dos aislamientos de *Pochonia chlamydo*sp*oria var chlamydo*sp*oria* sobre huevos de *Nacobus aberrans* obtuvo niveles de parasitismos de 83.7 y 81.8%, de la misma forma Flores *et al.* (2008), al probar varios aislamientos de *Pochonia chlamydo*sp*oria var chlamido*sp*oria,* sobre huevos de *Nacobus aberrans*, obtuvo parasitismos superiores al 60%.

Navarro *et al.* (2012) probó el potencial parasítico de *Pochonia chlamydo*sp*oria,* sobre *Naccobus aberrans.,* obtuviendo niveles de colonización en las plantas de frijol del 100%, mientras que en parasitismo de huevos obtuvo un 82% esto bajo condiciones controladas, utilizando dos dosis diferentes del asilamiento nativo (7500 y 15000 clamidosporas g^{-1} de suelo), de igual manera las poblaciones y índice de agallamiento fue menor al aplicar el hongo.

Carranza (2014), realizó una investigación bajo condiciones *in vitro,* utilizando el hongo *Paecilomyces lilacinus* sobre *Pratylenchus* sp*,* a tres dosis $6x10^5$, $6x10^6$ y $6x10^7$ conidias/mililitro respectivamente, obteniendo como resultados que los tratamientos de

$6x10^5$ y $6x10^6$ conidias/mililitro fueron las que mayor parasitismo presentaron con un 12.03%, mientras que el tratamiento de $6x10^7$ conidias/mililitro presentó un 9.02% de parasitismo en larvas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en dos fases, *in vitro* e invernadero, la primera se realizó en el laboratorio de Sanidad Vegetal, donde se realizó la prospección de hongos nematófagos, caracterización e identificación, taxonomía del nematodo de la naranjilla y hongos antagonistas así como el ensayo *in vitro*; la segunda fase se desarrolló en el invernadero perteneciente al Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja, donde se evaluó la eficacia de los diez mejores aislamientos obtenidos en condiciones *in vitro*.

3.1. ZONAS DE MUESTREO DE HONGOS NEMATÓFAGOS

La recolección de muestras para los aislamientos *in vitro*, se realizó en 3 cantones productores de naranjilla de la provincia de Zamora Chinchipe Cantón 1: Yanzatza (La Merced, Muchime, Bellavista), Cantón 2: Centinela del Cóndor (Nuevo Macará, La Tenza, La Guinza), Cantón 3: Nangaritza (Santa Elena, Pachicutza, Las Orquídeas), y en 2 Cantones de la provincia de Loja: Cantón 4: Loja (La Argelia), Cantón 5: Catamayo (El Tambo, Juanes).

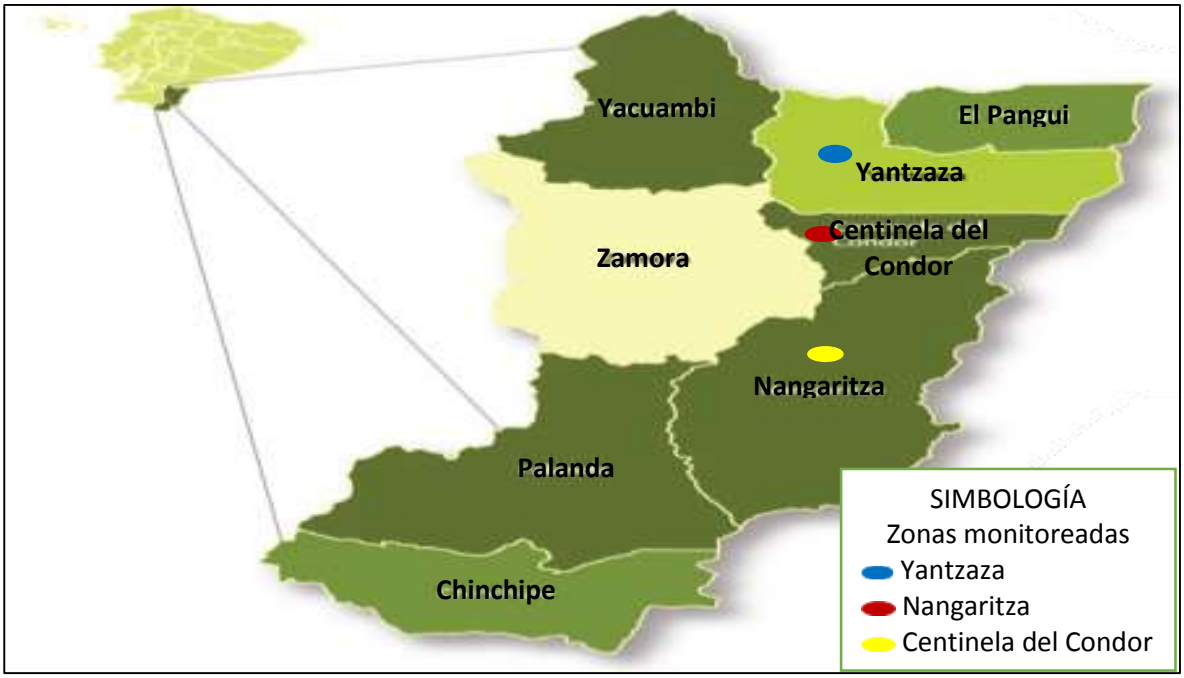


Figura 2. Mapa de zonas de muestreo de hongos nematófagos en la provincia de Zamora Chinchipe.

3.2. UBICACIÓN DE LOS ENSAYOS

3.2.1. Fase de Laboratorio e Invernadero

Los ensayos *in vitro* se desarrollaron en el laboratorio de Sanidad Vegetal y los ensayos en condiciones semicontroladas en el invernadero del Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja, ubicado entre las coordenadas planas.

Coordenadas x: 699250 UTM – 699300 UTM

Coordenadas y: 9 553 600 UTM – 9 553 650 UTM

Altitud: 2140 msnm.

Temperatura promedio en invernadero: 24.6 ºC

Humedad relativa (HR%): 52.5%

3.3. MATERIALES

3.3.1. Materiales de campo

Semillas de naranjilla, sustrato 1:1:1 (tierra, arena y humus), esterilizadora de sustrato, regaderas, etiquetas, bandejas germinadoras, fundas de polietileno de 12 X 16 cm, transplantadoras y Cypermetrina.

3.3.2. Materiales de laboratorio

Materiales y productos: Cajas de Petri, erlenmeyer, fiola de 100 mL, lámparas de alcohol, pipeta graduada, porta y cubre objetos, sircusas, tubos de ensayo, varilla de agitación, vasos de precipitación de 100, 500 y 1000 mL, aza de siembra, agujas hipodérmicas, agujas quirúrgica, pinzas, bandejas plásticas, bisturí, platos calados, puntas de micropipeta, saca bocados, fundas de polifan termoresistentes, fundas plásticas transparentes, jeringas de 1, 5 y 10 mL, parafilm, pipetas Pasteur, probetas graduada, tubos para microcentrífuga, envases de plástico, algodón, franela, lienzo, pañuelos faciales, papel filtro, tela organdí, motero, azul de metileno 1%, eosina al 10%, fucsina ácida 1 %, AA (agar y agua), AAA (agar, agua y antibióticos), arroz cocido y esterilizado, CMA (Agar harina de maíz), PDA (papa, dextrosa y agar), PDAA (papa, dextrosa, agar y antibióticos), ácido láctico 40%, alcohol potable e industrial, hipoclorito de sodio 1%, Chloramphenicol, Chlortetracycline hydrochloride, Streptomycin, contador manual de unidades, cámara de Neubauer, micropipeta de 100-1000 µl, micropipeta de

10-100 µl, tamices (Nº 60, 120 y 400), claves taxonómicas para *Meloidogyne*, claves taxonómicas de hongos nematófagos.

Equipos: Agitador tipo votice, Autoclaves, balanza electrónica de precisión, baño de María, cámara de flujo laminar, cámara digital, centrífuga, destilador de agua, estéreo microscopios, incubadoras, refrigeradores, microscopios, mechero bunsen, plato caliente con agitador magnético, agitador electrónica, Sistema de purificación de agua.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Metodología para el primer objetivo

"Determinar la especie de *Meloidogyne* predominante, asociado al cultivo de naranjilla en zonas productoras de la provincia de Zamora Chinchipe".

La identificación de la especie de *Meloidogyne* sp*.,* predominante en los sistemas radicales de las zonas muestreadas, se realizó mediante caracterización morfológica que consistió en observaciones de las estructuras anatómicas de la cabeza de machos (10 especímenes/sector), en microscopio con el objetivo 100x, para luego compararlas con claves taxonómicas de Zuckerman *et al. (*1987*);* Eisenback *et al.* (1980), mediciones de juveniles J_2 (50 especímenes/sector); cortes perineales (10 cortes/sector) obtenidos de hembras extraídas de agallas, tratadas con agua destilada por 24 horas y luego tratadas con una gota de ácido láctico al 40 % y eosina al 10%, observados al microscopio, fotografiados y comparados con los patrones perineales y medidas de J_2 de las claves de Taylor y Sasser (1983).

3.2.2. Metodología para el segundo objetivo

"Determinar la efectividad de aislamientos nativos de hongos nematófagos provenientes de diferentes zonas agroecológicas dedicadas a la producción de naranjilla de la provincia de Zamora Chinchipe para el control biológico de *Meloidogyne* spp."

3.2.2.1. Aislamiento de hongos parásitos de huevos

El muestreo se realizó en cultivos de naranjilla cosechada, se colectaron las raíces agalladas y muestras de suelo de la rizósfera de la planta, se las colocó en fundas plásticas dentro de una funda de papel, a fin de evitar la deshidratación de raíces y secado del suelo, para ser llevadas al laboratorio de Sanidad Vegetal para su procesamiento.

Se aplicó a las raíces agalladas, la metodología de Taylor y Sasser (1983), que consiste en el lavado y desinfectado con hipoclorito de sodio al 1 %, por sumersión de 2 a 3 minutos, y enjuague con agua destilada estéril. La extracción y siembra del inoculo se procesó extrayendo 100 masas de huevos bajo un estéreo microscopio, se colocó en un tubo de microcentrifuga con 0.5 mL de agua agarizada al 0,005 % y se maceró con un émbolo metálico durante un minuto hasta la liberación de los huevos; de esta suspensión se tomó 0,15 mL para sembrar en cajas de Petri con medio AAA y PDAA con pH 5,8. Las cajas fueron incubadas a 25°C ±1°C.

Las observaciones de parasitismo se realizaron a las 24 y 48 horas, en un microscopio invertido, de los huevos con presencia de micelio se repicó a medio PDA para obtener colonias puras.

3.2.2.2. Aislamiento de hongos parásitos de larvas J_2.

Se tomó las raíces con grado de agallamiento 4 y 5 y los nódulos fueron procesados con la metodología de Taylor y Sasser (1983), que consiste en el lavado y desinfectado con hipoclorito de sodio al 1 %, por sumersión de 2 a 3 minutos, se realizó enjuagues con agua destilada estéril. El aislamiento se realizó extrayendo 100 masas de huevos bajo un estéreo microscopio, se colocó en micro tamices con 20 mL de agua destilada estéril

en cajas de Petri, para que eclosionen a temperatura ambiente, una vez obtenida la suspensión de J_2 se sembró en cajas de Petri con medio AAA y PDAA. Las cajas fueron incubadas a 25°C ±1°C. El parasitismo se observó a las 24 y 48 horas, con ayuda de un microscopio invertido, de los J_2 con presencia de micelio se repicó a medio PDA para obtener colonias puras.

3.2.2.3. Aislamiento de hongos a partir de muestras de suelo

El muestreo se realizó tomando suelo de raíces de naranjilla con presencia de agallamiento. Los aislamientos se realizaron a partir de diluciones seriadas. Cada muestra se tomó 1 g de suelo y se colocó en un tubo de ensayo con 9 mL de agua estéril, se agitó durante 5 minutos obteniéndose una solución madre 1:10; de la cual se realizó diluciones seriadas de 1:100, 1:1000 y 1:10000. La siembra se realizó colocando 1 mL de cada solución en medios PDAA, AAA, incubándose a 25°C ± 1°C. La purificación de los aislamientos se realizó en medio PDAA y la identificación se realizó con las claves taxonómicas de Humber (1998); Barnett y Hunter (1972), Messiaen (1989). Samuels (1996).

3.2.2.4. Evaluación *in vitro*

Consistió en determinar los niveles de parasitismo de los aislamientos sobre huevos y J_2 de *M. javanica*, utilizando una suspensión ajustada a una concentración de $2x10^7$ esporas/mL, obtenidas de aislamientos de 20 días en medio PDAA incubadas a 25°C ± 1°C, La cuantificación de esporas/mL se realizó en la cámara Neubauer y la concentración se calculó con la ecuación de French y Hebert (1982):

Conidias x mL= ∑5cs x 50000

Donde:

Conidias/mL: Concentración de inoculo (conidios/mL)

∑5cs: Sumatoria de cinco cuadrados secundarios

50000: Constante utilizada para el conteo de esporas en 5 cuadrados secundarios.

Montaje de bioensayo. En cajas de Petri con medio de cultivo Agar Agua semisólido, se depositó una concentración de 80 huevos y 50 J_2/caja y luego una suspensión de $2x10^7$ esporas/mL, de las 30 aislamientos, con un testigo solo nematodos y un control de medio de cultivo y se incubó a 25°C ±1°C. Los aislamientos *in vitro* se evaluaron en un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA), con 30 tratamientos y 10 repeticiones (cajas Petri con medio AA), como se describen en el **Cuadro 1.**

Cuadro 1. Tratamientos evaluados en ensayo *in vitro*. Loja. 2015.

Tratamient	***Procedencia***	***Aislamientos***	***Concentración***
1	*Lab Sanidad Vegetal UNL.*	*F001*F	*$2x10^7$ Esporas Fusarium* spp.
2	*Nangaritza*	*NZO2(J_2)*F	*$2x10^7$ Esporas Fusarium* spp.
3	*Yantzaza*	*YEL1*F	*$2x10^7$ Esporas Fusarium* spp.
4	*Zumbi*	*CZT(J_2)*F	*$2x10^7$ Esporas Fusarium* spp.
5	*Yantzaza*	*YEM1 (S)*F	*$2x10^7$ Esporas Fusarium* spp.
6	*Yantzaza*	*YEL1(S)*F	*$2x10^7$ Esporas Fusarium* spp.
7	*Yantzaza*	*YEB2(J_2)P*	*$2x10^7$ Esporas Purpureocillium* spp.
8	*Zumbi*	*CZN(J_2)V*	*$2x10^7$ Esporas Pochonia* spp.
9	*Yantzaza*	*YEM2(H)V*	*$2x10^7$ Esporas Pochonia* spp.
10	*Nangaritza*	*NZO2(S)V*	*$2x10^7$ Esporas Pochonia* spp.
11	*Lab Sanidad Vegetal UNL.*	*Pch001V*	*$2x10^7$ Esporas Pochonia* spp.
12	*Yantzaza*	*YEL1 (S)V*	*$2x10^7$ Esporas Pochonia* spp.
13	*Yantzaza*	*YEL2(S)T*	*$2x10^7$ Esporas Trichoderma* spp.
14	*Nangaritza*	*NZP2T*	*$2x10^7$ Esporas Trichoderma* spp.
15	*Yanzatza*	YEB(J2)T	*$2x10^7$ Esporas Trichoderma* spp.
16	*Yanzatza*	*YEL2($_{J2}$)T*	*$2x10^7$ Esporas Trichoderma* spp.
17	*Zumbi*	*CZT(H)T*	*$2x10^7$ Esporas Trichoderma* spp.
18	*Nangaritza*	*NZP2(J_2)T*	*$2x10^7$ Esporas Trichoderma* spp.
19	*Nangarirtza*	*NZP(J_2)T*	*$2x10^7$ Esporas Trichoderma* spp.
20	*Yantzaza*	*YEL1(J_2)T*	*$2x10^7$ Esporas Trichoderma* spp.
21	*Yantzaza*	*YEM2(J_2)T*	*$2x10^7$ Esporas Trichoderma* spp.
22	*Lab Sanidad Vegetal UNL.*	*P004P*	*$2x10^7$ Esporas Purpureocillium* spp.
23	*Lab Sanidad Vegetal UNL.*	*P002P*	*$2x10^7$ Esporas Purpureocillium* spp.
24	*Yantzaza*	*YEB2(H)P*	*$2x10^7$ Esporas Purpureocillium* spp.
25	*Yantzaza*	*YEM2(H)P*	*$2x10^7$ Esporas Purpureocillium* spp.
26	*Zumbi*	*CZG(H)P*	*$2x10^7$ Esporas Purpureocillium* spp.
27	*Loja*	*LAA(H)P*	*$2x10^7$ Esporas Purpureocillium* spp.
28	*Catamayo*	*CTJ(J_2)P*	*$2x10^7$ Esporas Purpureocillium* spp.
29	*Catamayo*	*CTT1(H)P*	*$2x10^7$ Esporas Purpureocillium* spp.
30	*Catamayo*	*CZT(H)P*	*$2x10^7$ Esporas Purpureocillium* spp.
31		*Testigo*	*Sin hongo solo nematodos*
32		*Control*	*Solo medio de cultivo*

La evaluación se realizó observando el parasitismo a las 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 horas, se cuantificó huevos parasitados y no parasitados, larvas parasitadas y no parasitadas. La efectividad de los aislamientos se evaluó por el porcentaje de parasitismo y tipo de parasitismo, lo cual permitió seleccionar los 10 aislamientos de mayor efectividad.

3.2.2.5. Evaluación de aislamientos en invernadero

Se utilizó semillas de naranjilla de *Solanum quitoense var quitoense* Lam sembradas en bandejas germinadoras para luego de 2 meses trasplantarlas a fundas de polietileno de 12 x 16 con sustrato de proporción 1:1:1 (suelo, humus y arena), desinfectado mediante vapor de agua a 130°C

La masificación de hongos se realizó en fundas termoresistentes de **polifán**, se colocó 100 g de arroz cocido esterilizado. Luego se inoculó los hongos mediante repique, las mismas que se incubaron a 25°C ±1°C, hasta lograr la colonización completa del arroz.

La extracción de larvas se realizó con la metodología de Dropkin, 1989 y Cabanillas *et al.* 1989 descritos por Dávila e Hío (2005). Una vez lavadas y desinfectadas las raíces con hipoclorito de sodio al 1 % por 1 minuto, se picaron las raíces en fragmentos de 1 cm, luego se licuaron y tamizaron; el filtrado se recogió del tamiz No. 100 en 20 mL de agua, del cual se tomaron alícuotas de 2 mL para cuantificar y estimar una concentración de 2000 larvas J_2/planta.

Plántulas de cuatro semanas se trasplantaron a macetas de polietileno color negro con sustrato 1:1:1 (suelo arena, humus), dos semanas después, se inocularon 2 000 larvas J_2 /planta. Los hongos nematófagos se inocularon a los dos días y a las 3 semanas después de la inoculación de los nematodos, en concentraciones de 4 x10^8 esporas/planta.

Para determinar la concentración de inóculo de los hongos, se pesó 1g de arroz de cada aislado y se preparó una suspensión en 10 mL de agua destilada, para realizar la cuantificación en cámara de Neubauer, mediante la metodología descrita por French y Herbert (1982) referida en el acápite 3.4.6. Una vez conocida la concentración por gramo de arroz, se calculó mediante regla de tres simple, la cantidad de arroz necesario para alcanzar la concentración deseada de 4 x10^8 esporas/planta. La concentración deseada se estimó mediante la fórmula siguiente:

$$\textbf{Concentración deseada} = \frac{\text{Peso de sustrato x Concentración deseada}}{\text{Conidias por gramo}}$$

Donde:

Peso de sustrato:	1g de sustrato pesado
Concentración deseada:	4x10^8
Conidias/g:	Cantidad obtenida de la cuantificación

La inoculación se realizó en la zona de la rizósfera a una profundidad de 10 cm, para la segunda aplicación se aumentó al doble la cantidad de inóculo esto para garantizar de mejor manera el control.

Figura 3. Diseño experimental empleado en condiciones de invernadero Loja, 2015.

Diseño experimental. El ensayo se desarrolló en un DCA, con 11 tratamientos 20 repeticiones. Los tratamientos evaluados se describen en el **Cuadro 2.**

Cuadro 2. Tratamientos utilizados en el control del nematodo agallador, en condiciones de invernadero. Loja. 2015.

Tratamientos	Aislamientos	Concentración
1	**YEB2 (J_2)*T***	$4x10^8$esporas/ml *Trichoderma* spp.
2	**Pch001V**	$4x10^8$clamidosporas/ml *Pochonia* spp.
3	**LAA (H)*P***	$4x10^8$esporas/ml *Purpureocillium* spp.
4	**P004*P***	$4x10^8$esporas/ml *Purpureocillium* spp
5	**NZP2 (J_2)*T***	$4x10^8$esporas/ml *Trichoderma* spp.
6	**CTT1 (H)*P***	$4x10^8$esporas/ml *Purpureocillium* spp
7	**P002*P***	$4x10^8$esporas/ml *Purpureocillium* spp
8	**YEL1*F***	$4x10^8$esporas/ml *Fusarium* spp.
9	**YEL1 (J_2)*T***	$4x10^8$esporas/ml *Trichoderma* spp.
10	**CZG (H)*P***	$4x10^8$esporas/ml *Purpureocillium* spp
11	**Testigo**	*Sólo nematodos*

- **Variables evaluadas**

  Se evaluó después de dos meses de la primera inoculación: altura de planta, peso de biomasa foliar, peso del área radical, índice de agallamiento, población de J_2 por 10 g de raíz y 100 cm^3 de suelo, según metodologías descritas por Solano *et al.* (2014).

- **Análisis de varianza**

  Para determinar la eficiencia de los tratamientos se realizó mediante la prueba de rangos múltiples TUKEY al 0,5%.

Hipótesis para tratamientos

H0: Los aislamientos de hongos nematófagos evaluados no difieren significativamente entre sí a nivel del 5 % de significancia estadística en el control del nematodo agallador de las raíces *M. javanica*.

H1: Al menos uno de los aislamientos de hongos nematófagos difiere significativamente a nivel del 5 % de significancia estadística en el control de *M. javanica.*

3.2.3. Metodología para el tercer objetivo.

"Identificar taxonómicamente los hongos nematófagos de mayor efectividad contra *Meloidogyne* spp."

Se utilizaron cultivos de 10 días, en medio de PDA, en condiciones controladas con temperatura de 25°C ±1°C, mediante observaciones macroscópicas y microscópicas, considerando las siguientes características

-Caracterización morfológica; consistió en determinar el color y textura del micelio, altura y forma de la colonia.

- Caracterización cultural; se observó el crecimiento diario de la colonia, pigmentación y lisis del medio de cultivo.

- Caracterización microscópica; en microcultivos y montajes en lactofenol azul. Se observó forma y color del micelio, forma y tamaño de esporas, y conidióforos.

- Representación esquemática de las estructuras microscópicas con microfotografías.

- Comparación de estructuras vegetativas y reproductivas con las claves taxonómicas de, Barnett y Hunter (1972), Messiaen (1989), Humber (1998), Zare y Gams (2001), Samuels (1996), Gams & Bisett (1998).

3.2.4. Metodología para el cuarto objetivo

"Socializar los resultados de la investigación a nivel de productores, profesionales y estudiantes".

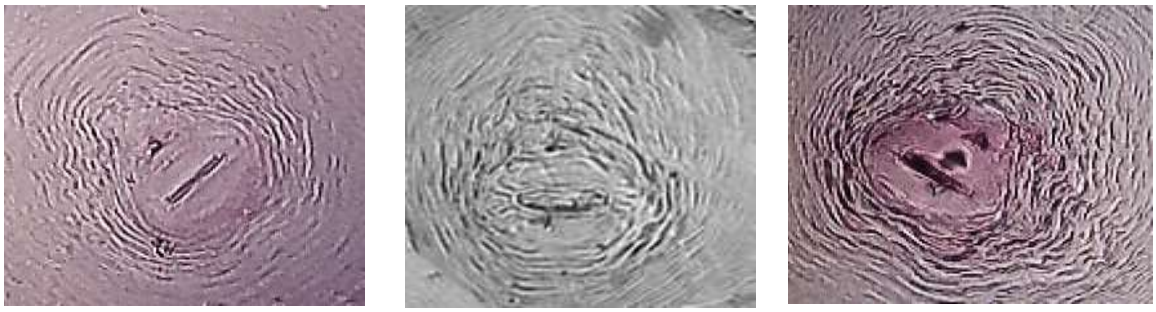
Para dar cumplimiento con el requisito Institucional se realizó al concluir la investigación la socialización de resultados en el ciclo V de la Carrera de Ingeniería Agronómica de La Universidad Nacional de Loja, con la presencia de los estudiantes de este ciclo, y algunos docentes de la carrera, incluido el director de la tesis, para esto se elaboró una presentación en Power Point, y trípticos donde constaban en resumen todo lo realizado en la investigación y los resultados obtenidos, además se entregó un certificado a los estudiantes por asistir a este evento.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECIE DE *Meloidogyne* PREDOMINANTE EN EL CULTIVO DE NARANJILLA.

4.1.1. Caracterización morfológica de las especies de *Meloidogyne* identificadas

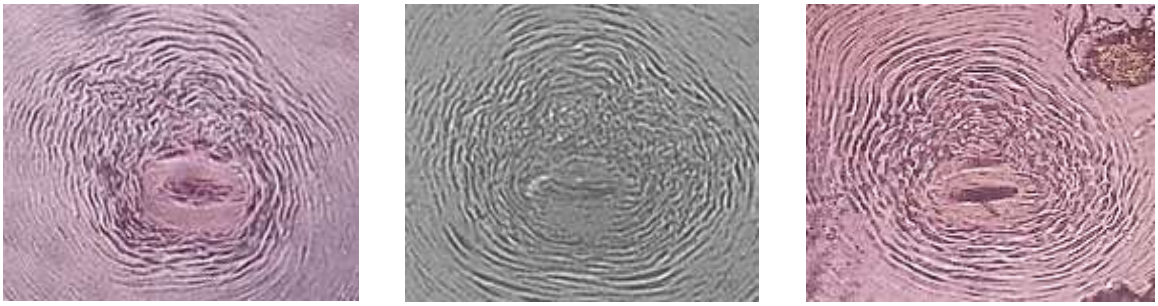
4.1.1.1. Caracterización en cortes perineales de *Meloidogyne javanica:* En la figura 3 se muestran los cortes perineales correspondiente a *M. javanica* cuyas características presentes son: arco dorsal alto en forma de trapecio o bajo en forma redondeada distintivas líneas laterales, sin estrías o pocas estrías que crucen las líneas laterales desde el sector dorsal al central, estas características concuerdan con las descritas por (Taylor y Sasser, 1983), para el patrón perineal de *M. javanica.*



Meloidogyne javanica ***Meloidogyne javanica*** ***Meloidogyne javanica***

Figura 4. Cortes perineales de *M. javanica* observados con objetivo 40x.

4.1.1.2. Caracterización en cortes perineales de *Meloidogyne arenaria:* En la figura 4 se presentan los cortes perineales correspondientes a *M. arenaria* cuyas características son: huella perineal de forma redondeada con numerosas estrías gruesas, cortan onduladas y desacomodadas, estas cerca de las líneas laterales convergen, arco dorsal bajo redondeado ha ligeramente aplanado, con una ala formando una invaginación a manera de sombrero, los campos laterales no se observan claramente, sin embargo se distinguen por que la de las estrías en esta zona que se bifurcan, estas características concuerdan con las descritas por (Taylor y Sasser, 1983), para el patrón perineal de *M. arenaria.*

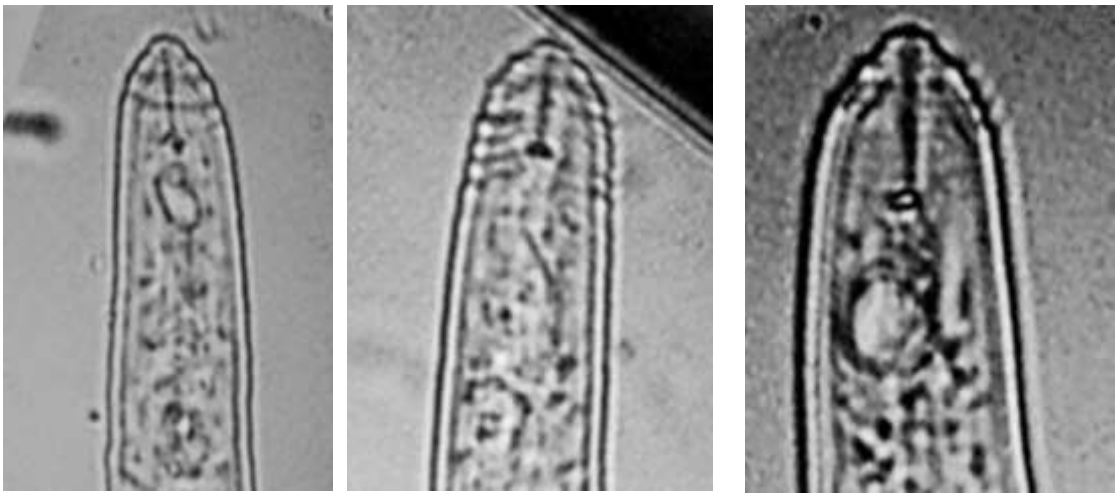


Meloidogyne arenaria ***Meloidogyne arenaria*** ***Meloidogyne arenaria***

Figura 5. Cortes perineales de *M. arenaria* observados con objetivo 40x.

4.1.1.3. Morfología de la cabeza de machos adultos de *Meloidogyne javanica:*

En la figura 5 se presentan las fotografías tomadas a cabezas de machos adultos correspondientes a *M. javanica.* Las mismas que presentan características morfológicas como: disco labial grande y liso, fusionado con los discos medios, la cubierta cefálica es alta y casi tan ancha como la región cefálica con o sin presencia de dos a tres anillos, el cono del estilete es angosto en su parte anterior y muy ancho en el extremo opuesto, el eje es cilíndrico; angostándose cerca de la unión de los nódulos basales. Los nódulos basales son bajos y anchos y son distinguibles del eje.

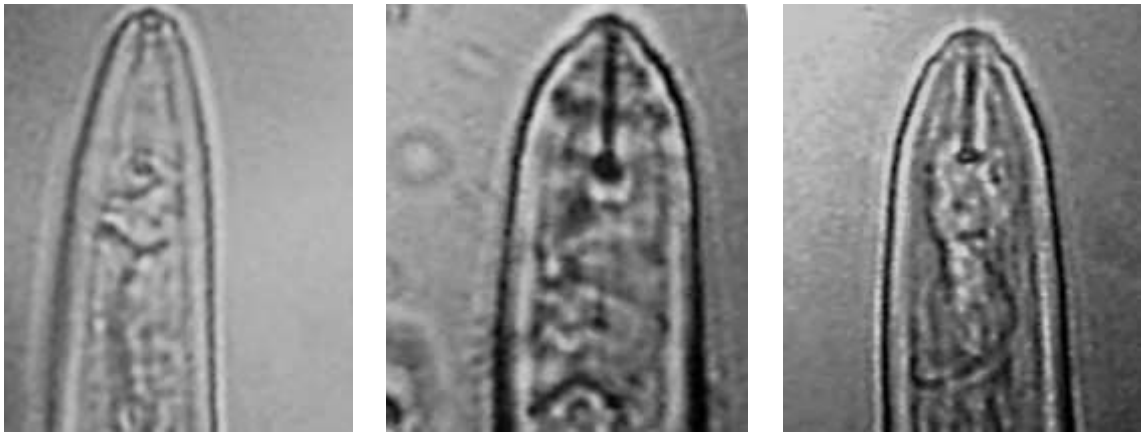


Meloidogyne javanica ***Meloidogyne javanica*** ***Meloidogyne javanica***

Figura 6. Fotos contrastadas a blanco y negro. Morfología de cabezas de machos adultos de *M. javanica* observados con el objetivo de inmersión 100x.

4.1.1.4. Morfología de la cabeza de machos adultos de *Meloidogyne arenaria:*

En la figura 6 se presentan las fotografías correspondientes a *M. arenaria* cuyas características presentes son: cubierta cefálica es baja y en declive hacia atrás, constituye una estructura lisa y continua que es casi tan ancha como la región cefálica, cono de estile puntiagudo en la parte anterior y más amplio en la región posterior, los nódulos son grandes y emergen gradualmente del estilete.



Meloidogyne arenaria ***Meloidogyne arenaria*** ***Meloidogyne arenaria***

Figura 7. Fotos contrastadas a blanco y negro. Morfología de cabezas de machos adultos de *M. arenaria* observados con el objetivo de inmersión 100x.

4.1.1.5. Características y mediciones de larvas J_2 de *Meloidogyne javanica:*

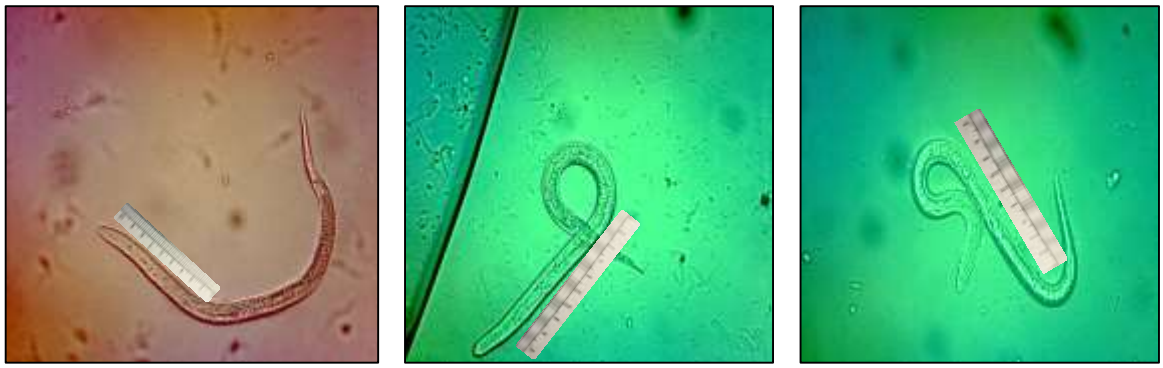
En la figura 7 se presentan fotografías de larvas J_2 correspondientes a *M. javanica* las mismas que presentan una longitud promedio de 0,370 mm, con rangos que oscilan entre los 0,365 – 0,375 mm.

Meloidogyne javanica ***Meloidogyne Javanica*** ***Meloidogyne javanica***

Figura 8. Larvas J_2 de *M. javanica* observados con el objetivo 10x.

4.1.1.6. Características y mediciones de larvas J_2 de *Meloidogyne arenaria:*

En la figura 8 se presentan las fotografías de larvas J_2 correspondientes a *M. arenaria* cuyas características presentes son: longitud promedio de la larva 0,470 mm, con rangos que oscilan entre los 0,431 - 0,510 mm.



Meloidogyne arenaria ***Meloidogyne arenaria*** ***Meloidogyne arenaria***

Figura 9. Larvas J_2 de *M. arenaria* observadas con el objetivo 10x.

En el cuadro 3 se resume las características morfológicas observadas en cortes perineales y las características morfológicas de la cabeza en machos adultos y la longitud (mm) de larvas J_2.

Cuadro 3. Parámetros para identificar taxonómicamente la especie de *Meloidogyne* predominante en cultivos de naranjilla de la provincia Zamora Chinchipe.

Monitoreos		***Porcentaje de especies identificadas en perineales***		***Porcentaje de cabezas de especies identificadas por sector***		***Porcentaje de especies identificadas J_2***	
Cantón	***Sector***	***M. javanica***	***M. arenaria***	***M. javanica***	***M. arenaria***	***M. javanica***	***M. arenaria***
Yanzatza	*La Merced*	*0*	*10*	0	10	*2*	*48*
	Muchime	*8*	*2*	7	3	*42*	*8*
	Bellavista	*2*	*8*	4	6	*7*	*43*
Nangaritza	Santa Elena	*6*	*4*	8	2	*36*	*14*
	Pachicutza	*7*	*3*	8	2	*34*	*16*
	Orquídea	*7*	*3*	7	3	*30*	*20*
Zumbi	Nuevo Macará	*8*	*2*	9	1	*28*	*22*
	La Guinza	*7*	*3*	10	0	*31*	*19*
	La Tenza	*5*	*5*	7	3	*26*	*24*
Total		*50*	*40*	60	30	*236*	*214*
Porcentaje		***55,55%***	***44,45%***	**66,66%**	**33,34%**	***52.44%***	***47.56%***

Como se observa en el cuadro 3, los resultados de la caracterización morfológica permito determinar que las especies asociadas a las raíces de naranjilla son *Meloidogyne javanica* y *Meloidogyne arenaria*, una vez comparados los cortes perineales y medidas de larvas J_2 con las claves taxonómicas de Taylor y Sasser (1983) y para cabezas de machos con las claves taxonómicas de Zuckerman *et al.* (1987) y Eisenback *et al.* (1980), estos resultados concuerdan con los referidos por García et ál. (2004); Gelpud et ál.(2011) quienes reportan a las especies *M. arenaria* (Neal) Chitw., *M. exigua* Göeldi, *M. hapla* Chitw., *M. incognita* (Kofoid et White) Chitw. y *M. javanica* (Treub) Chitw asociaciadas al cultivo de naranjilla causando un impacto negativo en el rendimiento, de igual forma Karssen y Moens (2006) señalan que las especies más comunes que atacan en naranjilla son *M. incognita*, *M. javanica, M. arenaria, M. hapla, M. exigua y M. acornea.* García et al (2004), quien al identificar taxonómicamente las especies de *Meloidogyne* en tomate de árbol y en naranjilla encontró *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. exigua* y *M. hapla,* asociadas a las raíces de estos cultivos. Resultados similares refiere Revelo (2009) quien menciona que el nematodo más frecuente en el cultivo de naranjilla es y *M. javanica.*

4.2. EFECTIVIDAD DE LOS AISLAMIENTOS DE HONGOS NEMATÓFAGOS NATIVOS EN EL CONTROL DE *M. javanica.*

4.2.1. Prospección y aislamiento de hongos nematófagos.

En el cuadro 4. Se presenta los aislamientos obtenidos de los 12 lugares de muestreo, en los cuales luego de ser caracterizados morfológicamente se determinó la identificación taxonómica y la codificación de los aislamientos.

Cuadro 4. Aislamientos fúngicos nematofagos aislados de muestras de suelo y raíces agalladas en zonas de muestreo de Z. Chinchipe y Loja. Loja. 2015.

CANTÓN	*SECTOR*	*PROPIETARI*	*UTM*		*ALTITUD*	*CÓDIGO DE AISLAMIEN*	*IDENTIFICACIÓN*
Yanzatza	*La Merced*	Cosmel Sarango	757069 W	9578519 S	832 msnm	*YEL1F*	*Fusarium* spp.
						YEL1(S)F	*Fusarium* spp.
						YEL1 (S)V	*Pochonia* spp.
						YEL2(S)T	*Trichoderma* spp.
						YEL2(J_2)T	*Trichoderma* spp.
						YEL1(J_2)T	*Trichoderma* spp.
	Muchime	Iván Quinde	758493 W	9584259 S	840 msnm	*YEM1 (S)T*	*Fusarium* spp.
						YEM2(H)V	*Pochonia* spp.
						YEM2(J_2)T	*Trichoderma* spp.
						YEM2(H)P	*Purpureocillium* spp.
	Bellavista	José Taday	758764 W	9584200 S	878 msnm	*YEB2(J_2)P*	*Purpureocillium* spp.
						YEB(J2)*T*	*Trichoderma* spp.
						YEB2(H)P	*Purpureocillium* spp.
Nangaritza	*Santa Elena*	Agustín Jiménez	761177 W	9549221 S	844 msnm		
	Pachicutza	María Solórzano	761741 W	9549235 S	847 msnm	*NZP2T*	*Trichoderma* spp.
						NZP2(J_2)T	*Trichoderma* spp,
						NZP(J_2)T	*Trichoderma* spp.
	Las Orquidea	Patricio Garandara	762171 W	9551083 S	867 msnm	*NZO2(J_2)F*	*Fusarium* spp.
						NZO2(S)V	*Pochonia* spp.
Centinela del Cóndor	*Nuevo Macará*	Amelia Culquicondor	743620 W	9060257 S	886 msnm	*CZN(J_2)V*	*Pochonia* spp.
	La Guinza	José Agila	757384 W	9558254 S	859 msnm	*CZG(H)P*	*Purpureocillium spp.*
	La Tenza	*Manuel Agila*	*756700 W*	*9560175 S*	*850 msnm*	*CZT(J2)F*	*Fusarium spp.*
						CZT(H)T	*Trichoderma spp.*
						CZT(H)P	*Purpureocillium spp.*
Loja	*La Argelia*	La Argelia	699940 W	9553965 S	2147 msnm	*LAA(H P*	*Purpureocillium* spp.
Catamayo	*EL Tambo*	Agustín Abrigo	682130 W	9552755 S	1254 msnm	*CTT1(H)P*	*Purpureocillium* spp.
	Juanes	Iván Gonzales	682379 W	9552830 S	1246 msnm	*CTJ(J_2)P*	*Purpureocillium* spp.

Simbología de códigos de aislamientos.
Cantón: Yantzaza (**Y**); Nangaritza (**N**); Centinela del Cóndor (**C**); Loja (**L**); Catamayo (**C**).
Parroquia: Los Encuentros (**E**); Zurmi (**Z**); Zumbi (**Z**); La Argelia (**A**); El Tambo (**T**).
Lugar: La Merced (**L**); Muchime (**M**); Bellavista (**B**); Las Orquideas (**O**); Santa Elena (**S**); Pachicutza (**P**); Nuevo Macará (**N**); La Tenza (**T**); La Guinza (**G**); La Argelia (**A**); El Tambo (**T**); Juanes (**J**).
Numero de aislado: Medio PDAA (**1**); AAA (**2**) ailados sin número es porque al comienzo no se tomó en cuenta este parámetro.
Aislado: Larva J_2 (**J_2**); Huevo (**H**); Suelo (**S**). aislados sin número es porque al comienzo no se tomó en cuenta este parámetro.
Hongo: *Pochonia (**V**); Purpureocillium (**P**); Trichoderma (**T**); Fusarium (**F**).*

Como se puede apreciar en el cuadro 4, de las cinco zonas muestreadas, en el cantón Yanzatza se obtuvo el mayor número de hongos nematófagos asociados a las raíces y al suelo, con predominancia de los géneros *Fusarium, Pochonia*, *Purpureocillium y Trichoderma,* resultados que concuerdan con lo reportado por Piñeiros y Arias (2008) quien al realizar monitoreos de suelo de Páramo encontró los géneros *Alternaria, Asperguillos, Byssochlamys, Cladosporium, Curvularia, Eupenicillium, Emericella, Fusarium, Microsporum, Mucor, Paecilomyces, Penicillium, Rhizopus, Sterigmatocystis y Trichoderma.* Villamagua (2006), menciona que el pH de los suelos de Zamora Chinchipe son ácidos con pH de 5.50, esto se relaciona con datos de Acosta (2010), quien menciona que *Paecylomyces* se puede desarrollar en pH desde los 2 a 10, mientras que Rodríguez *et al.* (2013).mensiona que las condiones de pH favorables para *Trichoderma* van de 5.0 a 6.5. Garcés *et al.* (2010), reportan que El pH óptimo para el desarrollo de *Fusarium* es de 7.7 y puede también pudiendo desarrollarse entre 2.2 y 9.0. Además Moreno (2000) citado por Arias y Piñeiros (2008) menciona que los pH para el desarrollo de hongos filamentoso van de 2-9 siendo el óptimo de 5-6.

4.2.2.. Evaluación de los aislamientos en la fase *in vitro*

4.2.2.1. Parasitismo en huevos y larvas J_2 de *Meloidogyne javanica*

En la figura 9, se muestran los parasitismos en larvas J_2 provocados por (a) *Purpureocillium* spp; (b) en huevos por *Trichoderma* spp; (c) en huevos por *Purpureocillium* spp; de igual forma en el cuadro 5 se presentan las diferencias estadísticas entre los tratamientos en cuanto a niveles de efectividad para las variables indicadas.

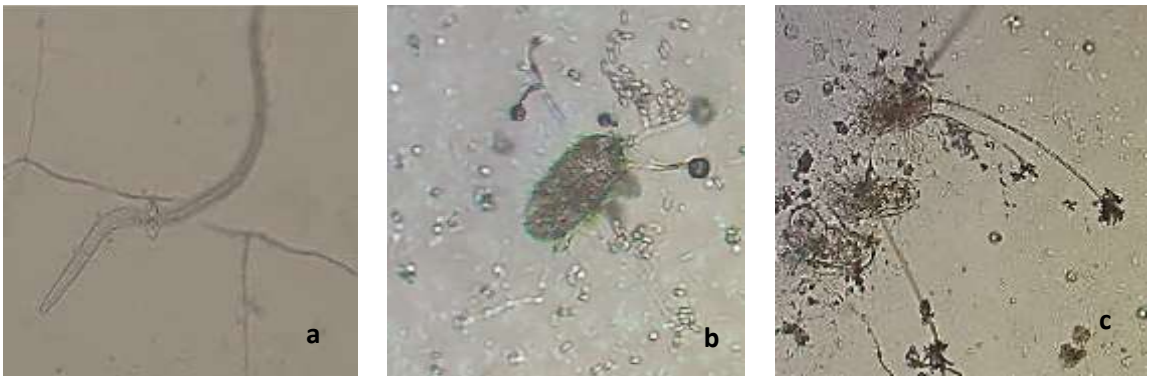


Figura 10. a) Parasitismo en larva provocado por *Purpureocillium* spp*, b)* parasitismo en huevo por *Trichoderma* spp *y c)* parasitismo provocado por *Purpureocillium* spp.

En el cuadro 5. Los tratamientos evaluados mostraron diferencias estadísticas, destacándose en orden de eficacia los aislamientos PCh001V, YEB2 (J_2)*T,* LAA (H)*P,* NZP (J_2)*T, P004P, CZG (H)P, y CTT1 (H)P,* con porcentajes de parasitismo del 58.9, 50.9, 48.5, 47.3, 46, 41.6 y 41%, en huevos. En los ensayos de parasitismo sobre J_2 los mejores aislamientos se ubican en un rango del 52.4% (Pch001V) al35.5% (YEL1*T).* Los demás aislamientos obtuvieron porcentajes de parasitismos en huevos y larvas, inferiores al 30%.

Cuadro 5. Análisis estadístico según Tukey 5%, parasitismo en huevos y larvas J_2 de *M. javanica*, por aislamientos de hongos nematófagos, *in vitro*. Loja. 2015.

Tratamientos	***Aislamiento***	***Media huevos***	***Agrupación***	***Media J_2***	***Agrupación***
T11	***Pch001V***	47,1	A	26,2	A
T15	**YEB(J_2)*T***	40,7	B	20,9	D
T27	***LAA(H P***	38,8	C	24,6	B
T19	***NZP(J_2)T***	37,8	CD	23,9	BC
T22	***P004P***	36,8	D	23,2	C
T26	***CZG(H)P***	33,3	E	18,3	E
T29	***CTT1(H)P***	32,8	EF	25,9	A
T23	***P002P***	31,9	F	24	BC
T3	***YEL1F***	30,7	G	18,7	E
T20	***YEL1(J_2)T***	28,4	H	21,9	D
T18	***NZP2(J_2)T***	26,9	I	10,3	F
T25	***YEM2(H)P***	18	J	9,6	F
T16	***YEL2(J_2)T***	13,6	L	10,4	F
T14	***NZP2T***	13,6	L	6,6	GHI
T9	***YEM2(H)V***	10,7	M	5,6	IJKL
T8	***CZN(J_2)V***	9,2	N	3	M
T12	***YEL1 (S)V***	8,5	NO	7.8	G
T6	***YEL1(S)F***	7,8	O	5,5	IJKL
T21	***YEM2(J_2)T***	6,6	P	6,4	HIJ
T1	***F001F***	6,5	P	5,6	IJKL
T10	***NZO2(S)V***	6,4	P	6,1	IJ
T17	***CZT(H)T***	6,3	P	7,5	GH
T13	***YEL2(S)T***	6,3	P	5,9	IJK
T2	***NZO2(J_2)F***	4,6	Q	5,6	IJKL
T30	***CZT(H)P***	4,2	Q	5,4	JKL
T4	***CZT(J_2)F***	4,2	Q	5,5	IJKL
T24	***YEB2(H)P***	4	Q	10,6	F
T5	***YEM1 (S)F***	4	Q	5,4	IJKL
T28	***CTJ(J_2)P***	3,8	Q	4,8	KL
T31	***Testigo***	0	R	0	N

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, según Tukey ($p \leq 0.05$).

Como se ha demostrado en la figura 9 y en el cuadro 5, el aislamiento Pch001V, del género *Pochonia* spp*.,* fue uno de los que mejor resultado se obtuvo con un alto nivel de parasitismo en huevos del 58.9% lo cual se relaciona con la investigación que realizó Romero (2009), al probar dos aislamientos de *Pochonia chlamydo*spo*ria var chlamydo*spo*ria* sobre huevos de *Nacobus aberrans* obtuvo niveles de parasitismos de 83.7 y 81.8%, de la misma forma Flores *et al.* (2008), al probar varios aislamientos de *Pochonia chlamydo*spo*ria var chlamido*spo*ria,* sobre huevos de *Nacobus aberrans*, obtuvo parasitismos superiores al 60%, mientras que Torres (2014), probó 2 cepas de *Pochonia chlamydo*spo*ria var chlamydo*spo*ria,* las que presentaron parasitismos del 83 y 89% sobre huevos de *Meloidogyne* spp*.*

Los aislamientos YEB (J_2)T, NZP(J_2)*T y YEL1(J_2)T***,** pertenecientes al género *Trichoderma* spp*,* presentaron niveles de parasitismo en huevos del 50.9%, 35.5 y 47.3%, esto se asemeja con la investigación realizada por Padilla *.et al.* 2014. Evaluaron el parasitismo *in vitro* de 6 aislamientos de *Trichoderma* spp*.,* obteniendo parasitismo entre 95 a 96%. De la misma manera Mendoza *et al.* (2013), Determinó el efecto de *Trichoderma artroviride, T. harzianum y T. viridi* sobre huevos de *Meloidogyne* spp*.,* en condiciones de laboratorio observó que los tratamientos son positivos en la destrucción de los mismos. Mendoza, (2010), realizó un estudio *in vitro* utilizando *Trichoderma a*sp*erellum e Hypocrea virens* obteniendo parasitismos mayores al 50%

Los aislamientos P002*P*, P004*P*, CZG(H)*P,* LAA(H)*P y* CTT1 (H)*P,* pertenecientes al género *Purpureocillium* spp*,* presentaron parasitismo en huevos del 39.9, 46.42, 41.6, 48.5 y 41%, esto se relaciona con el trabajo realizado por Dávila e Hío (2005), quienes obtuvieron un índice de parasitismo mayor al 50%, de la misma forma Padilla *et al.* 2014., obtuvo el 48 a 59%. Mientras que Cardona, *et al.* (2013), obtuvo altos niveles de control ante la eclosión de huevos en *Meloidogyne* spp*.*

El aislamiento YEL1*F,* perteneciente al género *Fusarium* spp*.,* presento parasitismo en huevos el control fue del 38.4%, resultados que concuerdan con los de Padilla *et al.* 2014., quien al probar *Fusarium oxi*spo*rium* obtuvo parasitismo entre 38.5 en huevos de *M. javanica*, de igual forma Meneses (2003).

En cuanto a parasitismo de larvas J_2 los aislamientos *Pch001V*, CTT1 (H)P, LAA (H)*P,* P002P, NZP (J_2)*T,* P004*P, YEL1(J_2)T y* YEB2 (J_2)*T,* se determinó parasitismos desde los 40 a 52.4%, y en los aislamientos YEL1F y CZG (H)P resultaron con parasitismos

por debajo del 40%, lo cual se relaciona con resultados obtenidos por Cruz (2007), quien evaluó cepas de *Trichoderma harzianum, Paecilomyces lilacinus, Pochonia chlamydo*sp*oria,* obteniendo reducción de poblaciones de *Meloidogyne* spp., en un 78, 76 y 41%.

De la misma forma Requene (2013), probó microorganismos antagonistas contra *Meloidogyne* spp., de manera individual y en combinaciones de *Paecilomyces lilacinus y Trichoderma harzianum,* al analizar los compuestos excretados por los hongos *T. harzianum y P. lilacinus* en los cultivos *in vitro* se confirmó su actividad nematicida en un 95% de mortalidad de J_2. Los extractos concentrados metabólicos de las suspensiones miceliares de *T. harzianum* produjeron una mortalidad del 100% de los J_2. Padilla *et al.* 2014. evaluó el parasitismo *in vitro* de 6 cepas de *Trichoderma* spp*.,* obteniendo parasitismo en juveniles en rangos del 13 a 79% y en otra investigación realizada por el mismo de igual forma con cepas de *Trichoderma* obtuvo parasitismo del 34 a 43% en juveniles. Mientras que Cardona *et al.* (2013), obtuvo un nivel de 96.8 de movilidad de juveniles.

Meneses (2003) obtuvo un mayor control del 70% en larvas de *R. similis,* al aplicar *Fusarium* spp*.,* de la misma manera Padilla *et al.* 2014., al probar *Fusarium oxi*sp*orium* obtuvo parasitismo entre 38.5 y 52.5% en juveniles de *M. javanica.*

4.2.3. Evaluación de los Aislamientos a nivel de invernadero

4.2.3.1. Altura de planta, biomasa foliar y biomasa radical.

En el cuadro 6. Se muestra los aislamientos que mayor efecto ejercieron sobre las diferentes variables agronómicas del desarrollo de la planta, siendo estos los aislamientos YEL1F y YEB (J_2)T, las que mayor efecto tuvieron sobre la variable altura y biomasa foliar, los aislamientos de mayor efecto en la variable Biomasa radical son los aislamientos CTT1(H)P y YEL1F, y el testigo que presento los menores valores en estas tres variables analizadas.

Cuadro 6. Análisis estadístico según Tukey 5% en el efecto de los aislamientos fúngicos sobre variables agronómicas en plantas de naranjilla, en invernadero, Loja, 2015.

Tratamientos	*Aislamientos*	*Altura (cm)*		*Biomasa Foliar (g)*		*Biomasa Radical (g)*	
1	**YEB(J_2)T**	24,9	A	56,0	B	45,8	E
2	***Pch001V***	18,0	DE	46,3	E	45,9	E
3	***LAA(H)P***	22,2	BC	45,8	E	56,6	C
4	***P004P***	20,2	DE	47,0	E	64,7	C
5	***NZP(J_2)T***	21,5	C	54,3	BCD	45,1	EF
6	***CTT1(H)P***	21,2	CD	47,4	E	94,1	A
7	***P002P***	23,3	B	55,1	BC	43,3	
8	***YEL1F***	25,6	A	63,4	A	73,2	B
9	***YEL1(J_2)T***	21,3	CD	53,0	D	43,8	EF
10	***CZG(H)P***	22,2	BC	54,1	CD	54,9	D
11	***TESTIGO***	19,1	F	41,3	F	35,3	G

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, según Tukey ($p \leq 0.05$).

En el cuadro 6 Se observa que en cuanto a la variable altura uno de los mejores resultados obtenidos es por el aislamiento YEL1F, esto se relaciona con estudios realizados por Chaves (2007), que al probar *Fusarium oxi*sp*orum* en banano obtuvo mayor desarrollo de la planta a diferencia del testigo.

En la variable biomasa foliar se determinó que los aislamientos más efectivos fueron los aislamientos YEL1F, YEB (J_2)T, LAA (H)T, CZG (H)P, CTT1 (H)P y YEL1 (J_2)T, esto se asemeja a la investigación realizada por Baños *et al.* (2010), que con el objetivo de reducir los niveles de infestación de *Meloidogyne* spp*.,* en el cultivo de tomate de mesa evaluaron el efecto *Trichoderma* spp*.,* encontrando un efecto estimulante sobre los parámetros morfológicos, fisiológicos y productivos del cultivo, de la misma forma Chaves (2007) al probar *Trichoderma atroviride* y *Fusarium oxi*sp*orum* para el control de *Radophulus similis,* encontró que estos dos hongos ejercieron una actividad positiva sobre el desarrollo de platas, el volumen foliar y radical de plantas de banano.

En los resultados de la variable biomasa radical, la cepa que mejor actuó fue la CTT1 (H)P. Esto concuerda con lo reportado por Cruz (2007), quien al utilizar los tratamientos con *P. lilacinus* y *P. chlamydo*sp*oria*, estos presentaron un mayor peso de raíces ($P < 0.05$) que el testigo. De la misma forma Dávila y Clímaco (2005) al probar a

Purpureocillium como controlador biológico de *Meloidogyne* en Crisantemo encontró que este incrementa el peso de la raíces.

4.2.3.2. Índice de agallamiento en raíces de naranjilla, población de J_2 en 10 gramos de raíces y 100 cc de suelo.

En el cuadro 7, se muestra el efecto de los aislamientos sobre la formación de agallas en el cultivo de naranjilla, la población de J_2 en 10g de raíces y 100cc de suelo, con mayor efectividad para la variable índice de agallamiento fueron son los aislamientos Pch001V y P004P, cuyos índices están por debajo de 2.5 grados agallamiento, comparados con el testigo que es grado 5 agallamiento.

Para la variable población de J_2 en 10 g de raíces los aislamientos más efectivos fueron P004P y P002P, mientras que en suelo el aislamiento que presento menor población de nematodos fue el aislamiento Pch001V, existiendo diferencias significativas frente al testigo.

Cuadro 7. Análisis estadístico según Tukey 5% en el efecto de aislamientos fúngicos sobre la formación de agallas por *M. javananica* en raíces, población de nematodos en 10g de raíces y 100cc de suelo en condiciones de invernadero. Loja. 2015.

Índice de agallamiento (Taylor y Sasser 1983)				***Población de J_2 en 10g de raíces***		***Población de J_2 en 100 cc de suelo***	
Trat	***Aislamiento***	***Media***	***Agrupación***	***Media***	***Agrupación***	***Media***	***Agrupación***
1	**YEB(J_2)*T***	3,5	B	703	E	593	B
2	***Pch001V***	2,3	D	433	G	24	D
3	***LAA(H)P***	3,5	B	238	H	164	D
4	***P004P***	2,5	CD	148	I	93	D
5	***NZP(J_2)T***	3,0	BC	1565	B	144	D
6	***CTT1(H)P***	2,9	BCD	1427	C	154	D
7	***P002P***	3,3	B	142	I	114	D
8	***YEL1F***	3,6	B	921	D	410	C
9	***YEL1(J2)T***	3,4	B	473	F	484	BC
10	***CZG(H)P***	3,3	B	1554	B	84	D
11	***TESTIGO***	5,0	A	1695	A	1634	A

Medias que comparten letras diferentes son significativamente diferentes, según Tukey ($p \leq 0.05$).

Según el cuadro 7. En lo referente a índice de agallamiento todos los tratamientos difieren significativamente del testigo, destacando los aislamientos Pch001V y P004P de los demás tratamientos, en concordancia con Navarro *et al.* (2012) que probó el

potencial parasítico de *Pochonia chlamydo*spo*ria,* sobre *Naccobus aberrans,* obteniendo niveles de poblaciones e índice de agallamiento menores al testigo, así mismo Leiva (2009), obtuvo el índice de agallamiento más bajo en promedio de 16.5 nódulos por raíz al aplicar *Pochonia chlamydo*spo*ria* sobre *Meloidogyne incognita*. De la misma forma Romero (2004) al probar el hongo *Paecilomyces lilacinus* contra *Meloidogyne* spp*.* en plantas de pepino, encontró la menor cantidad de nódulos en los tratamientos con (Oxamyl), *P. lilacinus.* Dávila y Clímaco (2005), al probar el hongo *Paecilomyces* sp*.* para el control de *Meloidogyne javanica* obtuvo un promedio de 8 nódulos equivalente a un índice de agallamiento bajo, demostrando que es promisorio para reducir la cantidad de agallas en las raíces.

En relación con la variable anterior Cruz (2007), al probar los hongos *P. chlamydo*spo*ria, P. lilacinus*, *T. harzianum* y al analizar la cantidad de nódulos en las raíces de okra americana, observó que estos redujeron 85, 84 y 34% de nódulos a diferencia de las plantas del control. De igual forma Guerra (2014), quien utilizó *Paecilomyces variotii* en el control de *Pratilenchus* spp*,* obtuvo una gran reducción de daño a la raíces. Mendoza (2010) reporta que al probar *Paecilomyces* spp*.,* para el control de *Meloidogyne incognita.,* en tomate redujo significativamente el índice de agallamiento en un grado 3, según la escala de Bridge y Page (1980).

Las variables número de nematodos en raíces y en suelo se redujo por efecto de los aislamientos P004P, P002P, y Pch001V, esto se relaciona con el estudio de Chaves (2007), quien determino que *Paecilomyces* redujo la población de nematodos en un 20.78 y 10.88% en rosas, de la misma forma Cruz (2007) al probar los tratamientos con *P. lilacinus* y *P. chlamydo*spo*ria* determino que estos redujeron la población de nematodos en 78 y 76%, respectivamente, con respecto a la población inicial. Cedeño (2005) refiere que usó *Paecilomyces lilacinus* y reportó un control de 85% en el cultivo de pepino (*Cucumis sativa*). Guerra (2014) al probar *Paecilomyces variotti* en el control de *Pratylenchus* spp obtuvo reducciones de población en raíces entre los 12.31 y 27.90%. Mendoza (2010), reporta en su estudio que al probar el hongo *Paecilomyces* spp*.,* para el control de *Meloidogyne incognita* en tomate este redujo significativamente la población de nematodos tanto en raíces como en suelo a diferencia del testigo.

4.2.3.3. Síntomas de agallamientos y deformación de células en cortes de tejidos nodulados

En la figura 10 se presentan los agallamientos en las raíces de las plantas afectadas, así como los daños a nivel celular provocados por el estilete y las enzimas digestivas del nematodo.

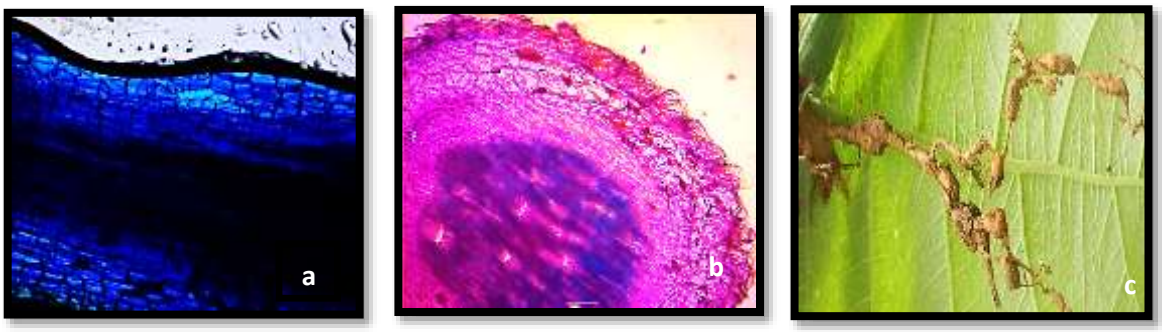


Figura 11. a) Corte longitudinal de raíz sana con células normales. b) Corte transversal de raíz agallada, células elongadas de forma anormal (hipertrofia), células, c) multiplicación celular, formación de agallas (hiperplasia).

Como podemos observar en la figura 10, los daños provocados por *M. javanica.,* son notables debido a las enzimas producidas por el estilete, las mismas que inducen la elongación anormal de celulas (hipertrofia), para luego producir una multiplicación de las mismas lo que provoca la formación de agallas (hiperplasia), esto concuerdo con lo reportado por Agrios (2005); Perry *et al.* (2009), que mencionan que uno de los síntomas provocados por este nematodo son causados por el alargamiento anormal de la célula (hipertrofia), por supresión de la división celular, o por la estimulación de proceso de división celular de una manera controlada y que resulta en la formación de agallas (hiperplasia) o de un gran número de raíces laterales en o cerca de los sitios de infección.

4.3. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE AISLAMIENTOS DE HONGOS NEMATÓFAGOS DE MAYOR EFECTIVIDAD CONTRA *M. javanica.*

Culminada la caracterización morfológica en colonias (caja invertida) y microscópica en microcultivos, con el apoyo de claves taxonómicas se llegó a identificar los aislamientos hasta el nivel de género, de acuerdo con las siguientes características.

4.4.1. Características morfológicas de *Fusarium* spp. Aislamiento YEL1*F*

Figura 12. a) Cultivo de Fusarium spp., colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: mesoconidias y conidióforos (40x).

En la figura 11 se observan colonias en PDA a 25°C, alcanzan un diámetro de 9 cm en 10 días (tasa de crecimiento 3.9 mm/24h), forma 3 halos el primero ubicado en el centro de la colonia de un color violeta, el segundo se forma a una distancia de 2 cm de color verde claro, y el tercero se forma en los bordes de la caja siendo del mismo color que el segundo halo a una distancia de 2 cm del segundo anillo, cada anillo se encuentra alternado por micelio de color crema, planas, de micelio algodonoso, con una altura de… mm, pigmentando el medio al reverso de la caja de un color naranja y naranja pálido, microscópicamente presenta numerosas macro, meso y microconidias destacándose en mayor cantidad mesoconidias, midiendo estas 17.9 µ de largo y 3.5 µ de ancho, tienen forma de media luna o canoa, el conidióforo tiene una longitud de 39 µ y de ancho 3.4 µ, además presenta hifas hialina con septos. Estas características coinciden con las descritas por el INTA (2007).

4.4.2. Características morfológicas de *Pochonia* spp. Aislamiento Pch001*V*

Figura 13. a) Cultivo de *Pochonia* spp., colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: clamidosporas y conidióforos (40x).

En la figura 12 se observa colonias en PDA a 25ºC, alcanzan un diámetro de 2 cm en 10 días (tasa de crecimiento 2.4 mm/24h), forma 3 halos el primero ubicado en el centro de la colonia de un color crema oscuro, el segundo se forma a una distancia de 5 mm de color amarillo pálido, y el tercero color blanco cremoso, planas, de micelio algodonoso al comienzo pero que conforme envejece se torna pulvurulento y el micelio se torna de color naranja intenso, con una altura de 3 mm, pigmentando el medio al reverso de la caja de un color amarillo, microscópicamente presenta numerosas clamidosporas, midiendo estas 4.8 µ de largo y 2 µ de ancho, tienen forma de elipsoidal, estas se forman en cabezuelas globosas, fiálides verticiladas de 13 µ de largo en número de 4 a 5, el conidióforo tiene una longitud de 50 µ y de ancho 3.5 µ, además presenta hifas hialina con septos y las estructuras se las encuentra en mayor cantidad en el micelio viejo. Estas características coinciden con las descritas por Gams y Zare (2001).

4.4.3. Características morfológicas de *Purpureocillium* spp*.* Aislamiento P004*P*

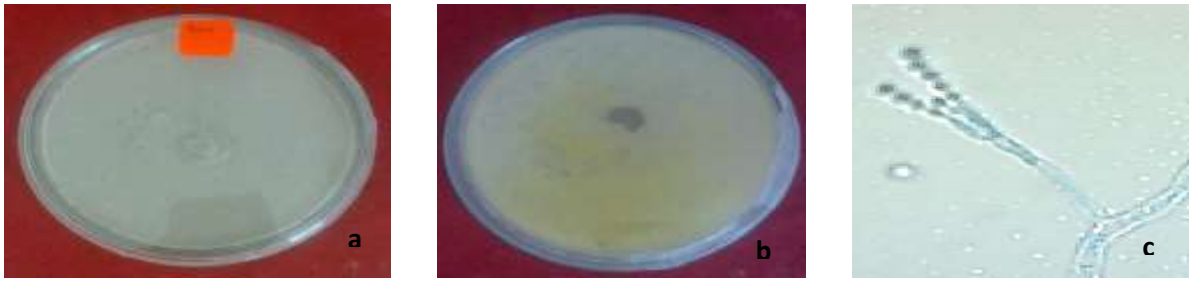


Figura 14. **a)** Cultivo de *Purpureocillium* spp., colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidias y conidióforos (40x).

En la figura 13 observamos colonias en PDA a 25ºC, alcanzan un diámetro de 9 cm en 10 días (tasa de crecimiento 1.1 mm/24h), micelio de color blanco al inicio pero que poco a poco se va tornando de un color lila, planas, de micelio polvoriento, con una altura de 1.5 mm, pigmentando el medio al reverso de la caja de un color amarillo pálido, microscópicamente presenta numerosas conidios, midiendo estas 2.5 µ De largo y 2.4 µ De ancho, tienen forma circular e elipsoidal, forma conidióforos con filiadas de 7.5 µ de largo en un número de 4 a 6, el conidióforo tiene una longitud de 43.6 µ y de ancho 3 µ, además presenta hifas hialina con septos. Estas características coinciden con las descritas por Elósigue *et al.* (2006), Barnett y Hunter (1972), Humber (1993), Arias y Piñeros (2008).

4.4.4. Características morfológicas de *Purpureocilliums* spp*.* Aislamiento P002*P.*

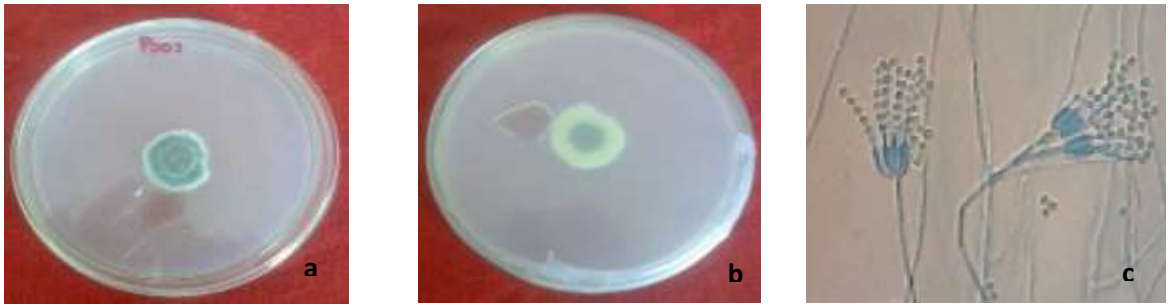


Figura 15. a) Cultivo de *Porpoureocillium* spp*.,* colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidios, conidióforos y fiálides (40x).

En la figura 14 observamos colonias en PDA a 25ºC, alcanzan un diámetro de 1.5 cm en 10 días (tasa de crecimiento 1.1 mm/24h), micelio de color blanco al inicio pero que poco a poco se va tornando de un color lila, planas, de micelio polvoriento, con una altura de 1mm, pigmentando el medio al reverso de la caja de un color amarillo pálido, microscópicamente presenta numerosas conidios, midiendo estas 1.3 µ de largo y 1.3 µ de ancho, tienen forma circular e elipsoidal, forman forma conidióforos con filiadas en un número de 3 a 4, el conidióforo tiene una longitud de 16.5 µ y de ancho 0.95 µ además presenta hifas hialina sin septos. Estas características coinciden con las descritas por Barnett y Hunter (1972), Humber (1993), Arias y Piñeros (2008) y Bustillo (2001).

4.4.5. Características morfológicas de *Purpureocillium* spp*.* Aislamiento LAA (H)*P*

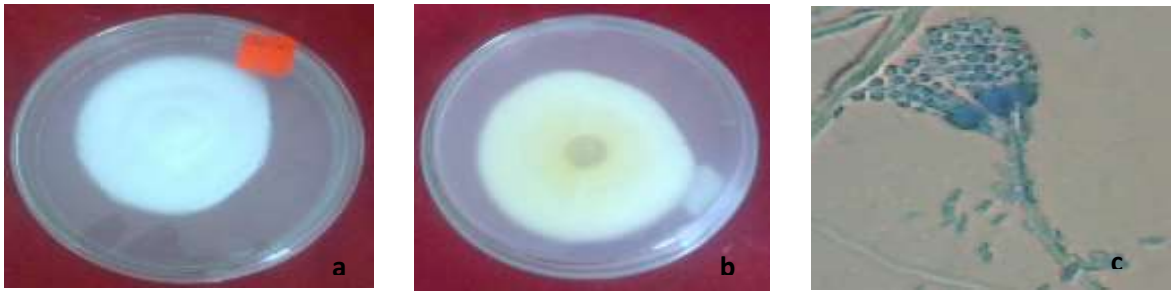


Figura 16. a) Cultivo de *Purpureocillium* spp*.,* colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidios, conidióforos y fiálides (40x).

En la figura 15 observamos colonias en PDA a 25ºC, alcanzan un diámetro de 5 cm en 10 días (tasa de crecimiento 3.3 mm/24h), micelio algodonoso, con una altura de 3 mm, pigmentando el medio al reverso de la caja de color amarillo pálido, microscópicamente

presenta conidios, midiendo estas 2.2 µ de largo y 1.6 µ de ancho, tienen forma de media circular e elipsoidal, contenidas sobre estructuras denominas fialides de 7 µ de largo, se encuentran en cantidad de 4 a 6, el conidióforo tiene una longitud de 41.3 µ y de ancho 1.8 µ, además presenta hifas hialina septadas. Estas características coinciden con las descritas por Barnett y Hunter (1972), Humber (1993), Arias y Piñeros (2008) y Bustillo (2001).

4.4.6. Características morfológicas de *Purpureocillium* spp*.* Aislamiento CTT1 (H)*P*

Figura 17. a) Cultivo de *Purpureocillium* spp., colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidias, conidióforos y fiálides (40x).

En la figura 16 observamos colonias en PDA a 25ºC, alcanzan un diámetro de 5 cm en 10 días (tasa de crecimiento 3.3 mm/24h), micelio algodonoso con 5 estrías onduladas en el centro, la altura de micelio alcanza 2.5 mm, pigmentando el medio al reverso de la caja de color amarillo pálido, pudiéndose observar las estrías de la colonia también en el reverso de la caja, microscópicamente presenta conidios, midiendo estas 2.6 µ de largo y 1.7 µ de ancho, tienen forma de media circular e elipsoidal, contenidas sobre estructuras denominas fialides de 6 µde largo, se encuentran en una cantidad de 4 a 6, el conidióforo tiene una longitud de 40.6 µ y de ancho 1.8 µ, además presenta hifas hialina septadas. Estas características coinciden con las descritas por Barnett y Hunter (1972), Humber (1993), Arias y Piñeros (2008) y Bustillo (2001).

4.4.7. Características morfológicas de *Purpureocillium* spp*.* Aislamiento CZG (H)*P*

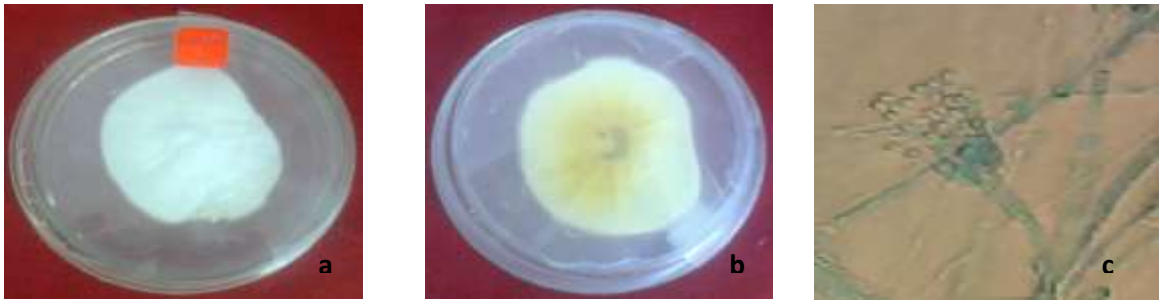


Figura 18. a) Cultivo de *Purpureocillium* spp*.,* colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidias, conidióforos y fiálides (40x).

En la figura 17 observamos colonias en PDA a 25ºC, alcanzan un diámetro de 5 cm en 10 días (tasa de crecimiento 3.4 mm/24h), micelio algodonoso con 5 estrías onduladas en el centro, la altura de micelio alcanza 3 mm, pigmentando el medio al reverso de la caja de color amarillo pálido, pudiéndose observar las estrías de la colonia también en el reverso de la caja, microscópicamente presenta conidios, midiendo estas 1.9 µ de largo y 1.6 µ de ancho, tienen forma de media circular e elipsoidal, contenidas sobre estructuras denominas fialides de 5.6 µ de largo que se encuentran en una cantidad de 4 a 6, el conidióforo tiene una longitud de 20 µ y de ancho 1.5 µ, además presenta hifas hialina septadas. Estas características coinciden con las descritas por Barnett y Hunter (1972), Humber (1993), Arias y Piñeros (2008) y Bustillo (2001).

4.4.8. Características morfológicas de *Trichoderma* spp*.* Aislamiento YEB (J_2)*T*

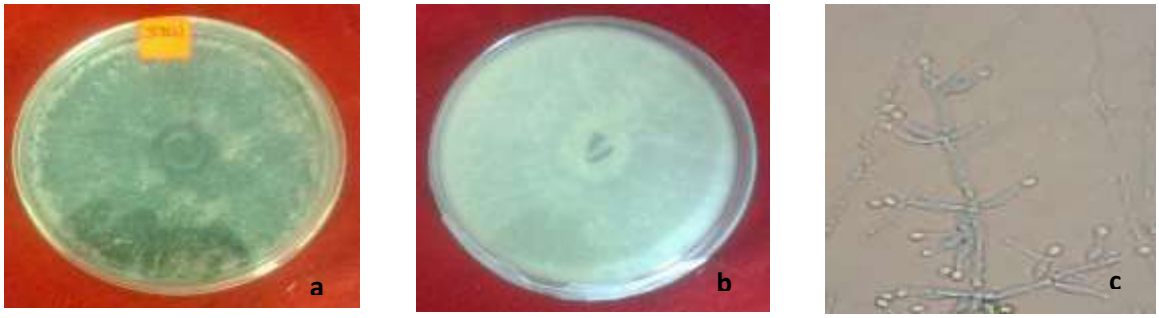


Figura 19. a) Cultivo de *Trichoderma* spp., colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidias, conidióforos y fiálides (40x).

En la figura 18 observamos colonias en PDA a 25ºC, alcanzan un diámetro de 9 cm en 3 días (tasa de crecimiento 4.3 mm/24h), forma 3 anillos de crecimiento el primero

ubicado en el centro de la colonia de un color verde intenso, el segundo se forma a una distancia de 1.5cm, con respecto al primero siendo este de color verde blanco, y el tercero se forma en los bordes de la colonia siendo del mismo color verde, cada anillo tiene un grosor de 5 mm micelio flocoso, con una altura de 2.3 mm, pigmentando el medio al reverso de la caja de color amarillo pálido, microscópicamente presenta numerosas conidios, midiendo estas 2.6 µ de largo y 2.1 µ de ancho, tienen forma elipsoidal, forma fialides en forma de botella, de 6.8 µ el conidióforo tiene una longitud de 25.1 µ y de ancho 2 µ, además presenta hifas hialina con septos. Estas características coinciden con las descritas por Gams & Bisett (1998), Barnett y Hunter (1972) y Samuels (1996).

4.4.9. Características morfológicas de *Trichoderma* spp. Aislamiento NZP (J_2) *T*

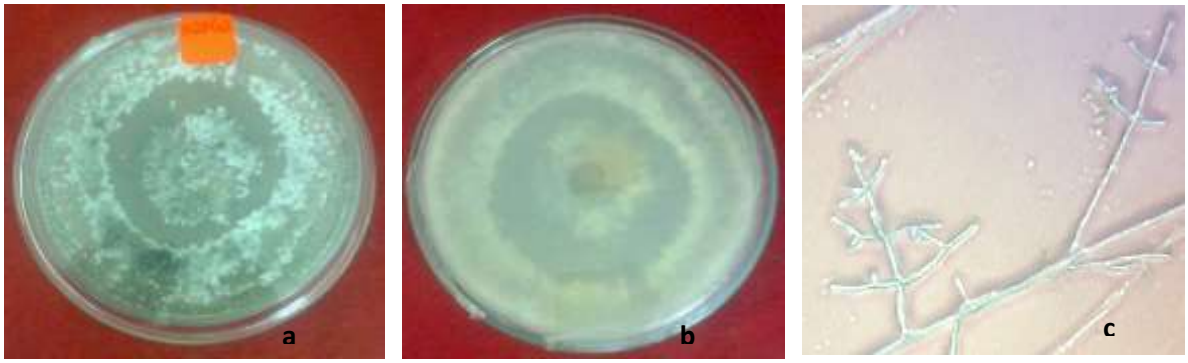


Figura 20. a) Cultivo de Trichoderma spp., colonias de 10 días b) Caja invertida: pigmentación del medio c) Estructuras microscópicas: conidias, conidióforos y fiálides (40x).

En la figura 19 observamos colonias en PDA a 25ºC, alcanzan un diámetro de 9 cm en 3 días (tasa de crecimiento 3.8 mm/24h), forma 3 anillos de crecimiento el primero de color verde claro, el segundo crema y el tercero blanco, la distancia entre el primer y segundo anillo es de 1 cm, teniendo cada anillo un ancho de 1 cm, micelio flocoso, con una altura de 1.2 mm, pigmentando el medio al reverso de la caja de color amarillo bajo los anillos blanco y verde bajo el micelio verde, microscópicamente presenta numerosas conidios, midiendo estas 0.5 µ de largo y 0.4 µ de ancho, tienen forma elipsoidal, forma fialides en forma de botella de 1.4 µ de largo, el conidióforo tiene una longitud de 18.8 y de ancho 1.6 µ, además presenta hifas hialina con septos. Estas características coinciden con las descritas por Gams & Bisett (1998), Barnett y Hunter (1972) y Samuels (1996).

4.4.10. Características morfológicas de *Trichoderma* spp*.* Aislamiento YEL1 (J_2)*T*

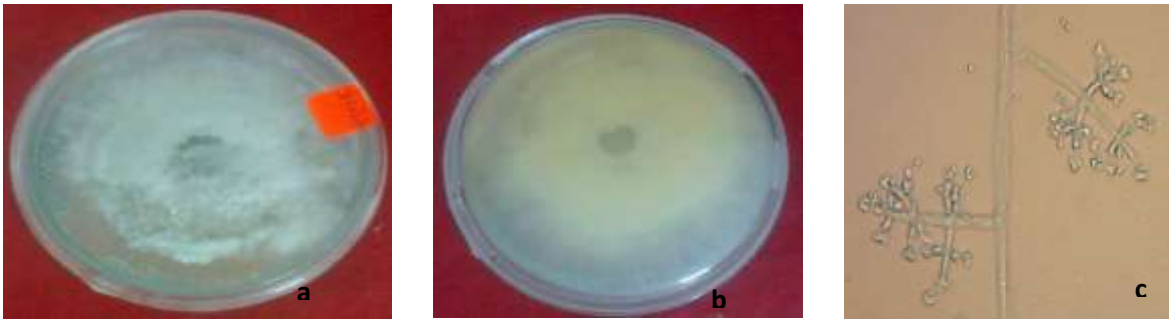


Figura 21. a) Cultivo de *Trichoderma* spp., colonias de 10 días **b)** Caja invertida: pigmentación del medio **c)** Estructuras microscópicas: conidias, conidióforos y fiálides (40x).

En la figura 20 observamos colonias en PDA a 25ºC, alcanzan un diámetro de 9 cm en 3 días (tasa de crecimiento 4.9 mm/24h), forma 2 anillos de crecimiento el primero ubicado a una distancia de 1.7 cm con respecto al centro de la colonia, siendo este de color blanco, y teniendo un grosor de 0.5 cm, el segundo anillo se forma a una distancia de 1.5 cm con respecto al primer anillo teniendo un color verde intenso, con un grosor de 0.5 cm, micelio flocoso, con una altura de 3 mm, pigmentando el medio al reverso de la caja de color amarillo bajo los anillos blanco y verde bajo los anillos verdes, microscópicamente presenta numerosas conidios, midiendo estas 1.8 µ de largo y 1.5 µ de ancho, tienen forma elipsoidal, forma fialides en forma de botella de 3.8 µ de largo, el conidióforo tiene una longitud de 28.4 µ y de ancho 2.2 µ, además presenta hifas hialina con septos. Estas características coinciden con las descritas por Gams & Bisett (1998), Barnett y Hunter (1972) y Samuels (1996).

3.4. SOCIALIZACIÓN DE RESULTADOS DE INVESTIGACIÓN

Se realizó la explosión de los resultados de tesis lo que permitió informar a los estudiantes de los tratamientos que mejor resultado se obtuvo, de la misma manera los estudiantes participaron haciendo preguntas de sus inquietudes que ellos tenían y estas fueron aclaradas, además que se entregaron trípticos (Anexo 22) y certificados a los asistentes (Anexo 21).

4. CONCLUSIONES

- La caracterización morfológica realizada en cortes perineales, machos y larvas J_2, permitió la identificación taxonómica de *Meloidogyne javanica y Meloidogyne arenaria* asociadas a las raíces de la naranjilla, con predominancia de *M. javanica.*

- La prospección e identificación taxonómica de hongos nematofagos tanto en masas de huevos como en suelo de la rizósfera permitió determinar la presencia de los géneros *Purpureocillium, Pochonia, Trichoderma y Fusarium*, interactuando como probables agentes de control biológico del nematodo agallador de la naranjilla, en las zonas muestreadas.

- Las evaluaciones *in vitro*, permitieron determinar diferencias altamente significativas entre los 30 aislamientos y el testigo, destacando con altos porcentajes de parasitismo en huevos y J_2 de *M. javanica*, los aislamientos YEB (J_2)T y Pch001V.

- En condiciones de invernadero, los mejores aislamientos por su efecto en la reducción de poblaciones en raíces (índices de agallamiento, población J_2 en 10 g de raíces) y en suelo (100cc de suelo), fueron Pch001V, P002P y P004P, lo cual confirma la acción parasítica de *Pochonia spp, Purpureocillium spp.,* sobre huevos y larvas de *M. javanica*.

- En condiciones de invernadero, los mejores aislamientos por su efecto sobre las variables agronómicas de la planta (altura, biomasa foliar, biomasa radical) fueron YEL1F y YEB (J_2)T, y CTT1 (H)P, lo cual se explica por la estimulación endofítica de *Trichoderma spp, Purpureocillium spp* y *Fusarium spp.,* sobre el sistema radical y su efecto en el desarrollo de la planta.

- Los niveles de efectividad obtenidos en los ensayos *in vitro* como in vivo, con los aislamientos de los géneros *Purpureocillium, Pochonia, Trichoderma y* aislamientos no patogénicos de *Fusarium* permiten sugerir su utilización como alternativa de control biológico del nematodo agallador *M. javanica*, en condiciones similares a las investigadas.

5. RECOMENDACIONES

- Evaluar en condiciones de campo los aislamientos que presentaron los más altos niveles de parasitismo tanto en los ensayo *in vitro* como en invernadero, con el fin de corroborar que estos géneros son una alternativa viable y ecológica en el control del nematodo agallador para los productores de naranjilla de la provincia de Zamora Chinchipe.

- Realizar investigaciones que permitan extraer un producto basado en aislamientos de hongos antagonistas contra el género *Meloidogyne javanica.* de tal forma que permita entregar a los productores de naranjilla un producto comercial estandarizado y que garantice el control del mismo.

- Realizar estudios de caracterización morfológica, bioquímica y molecular para determinar la identidad taxonómica a nivel de especies de los aislamientos de los hongos nematófagos evaluados.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Agrios, G. 2005. Introducción a la fitopatología. LIMUSA. 2da Edición. México. 734-749 p.

2. Alvarez, A y Paccha, M. 2011. Control de mosca blanca y nematodo agallador mediante extractos estandarizados de plantas con propiedades insecticidas-nematicidas, en el cultivo de tomate de mesa *Solanum licopersicum* L. Tesis en Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional de Loja.

3. Arbeláe., G. 2010. Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxi*sp*orum.* Revista Agronomía Colombiana. Colombia. 6p.

4. Arias, E;. Piñeros P. 2008. Aislamiento e Identificación de Hongos Filamentosos de Muestras de Suelo de los Páramos de Guasca y Cruz Verde. Tesis. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá – Colombia. 204 p.

5. Baños, Y., Armando, B., Lazo, R., Gonzáles, I., Morejón, L. 2010. Efecto de enmiendas orgánicas y *Trichoderma* spp. en el manejo de *Meloidogyne* spp. Revista Brasileira de Agroecologia. 5(2).

6. Barnett H. L., Hunter B. 1987. Ilustred genera of inperfect fungi. Burges Publishing Company. Third edition. California.

7. Barnett, H. L., y Hunter, B. B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. (3a Ed.). Minneapolis: Burgess Publishing Company.

8. Barres, M., Bello, A., Jordá, C., Tello, J. 2009. La eliminación del bromuro de metilo en la protección de cultivos como modelo mundial para la conservación del medio ambiente. Tesis. Universidad de Almería. Madrid. España. 515 p.

9. Betancourth, C., Salazar, C., Rodriguez, M. 2011. Evaluación de coberturas de suelo con caléndula (*Calendula officinalis* L.), Crotalaria (*Crotaralia* sp*.* L.) y

10. Avena (*Avena* sp.) en el control de *Meloidogyne* spp. en lulo (*Solanum quitoense* Lam.). Revista de Ciencias Agrícolas 29(2). Colombia. 84-88 p.

11. Bourguignon, E.2008. Ecology and diversity of indigenous *Trichoderma* species in vegetable cropping systems. Ph.D. Tesis. Lincoln University, Canterbury, New Zealand.pp.235.

12. Bourne, J.M. (1995). The importance of the host plant in the biological control of root-knot nematodes *Meloidogyne* spp by the nematophagous fungus *Verticillium chlamydo*sp*orium*. PhD Tesis, University of Reading.

13. Brand, D., Roussos, S., Pandey, A., Zilioli, P., Pohl, J., Soccol, C. 2004. Development of a Bionematicide with Paecilomyces lilacinus to Control Meloidogyne incognita. Applied Biochemistry and Biotechnology 118:81-88.

14. Bustillo, A. 2001. Hongos e insectos y posibilidades de uso de control biológico de plagas en Colombia. En seminario uso de entomopatogenos en Colombia. Sociedad Colombiana de Entomología. Bogotá, Colombia. 30-53p.

15. Cardona, N., Pavas, H., Fernández, E. 2013. Efecto del filtrado de *Purpureocillium* sp *(*Cepa UdeAo106*),* sobre la eclosión de huevos y movilidad de juveniles de *Meloidogyne incognita-javanica. Revista Colombiana Biotecnol.* 16(2). Colombia. 8p.

16. Carranza, G. 2014. Evaluación *In vitro* de la patogenicidad del hongo *Paecilomyces lilacinus* sobre el nematodo *Pratylenchus* sp*.* Universidad Rafael Landivar. Tesis. Guatemala. 54p.

17. Carrillo, J., García, R., Allende, R., Márquez, I., Cruz, J. 2013. Manejo del nematodo agallador (*Meloidogyne* spp) en hortalizas, en Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 2(18).

18. Cedeño, A. 2005. Control de *Meloidogyne* spp*.* en pepino (*Cucumis sativa*) con Micorriza Vesiculo Arbuscular (VAM) (Mycoral®), *Trichoderma harzianum* y

Paecilomyces lilacinus. Proyecto especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano. Honduras. 16 p.

19. Chaves, N. 2007. Utilización de bacterias y hongos endofíticos para el control biológico del Nematodo Barrenador *Radopholus similis* (Cobb) Thorn. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR. CATIE. 85p.

20. Ciancio, A.; K. G. Mukerji. 2007. General Concepts in Integrated Pest and Disease Management. Canada, Springer. 181-184 p.

21. Coast, W. 2008. Los pesticidas y su salud. Environmental Law. Libro. 1^{era} Edición 2-3 p.

22. Crozzoli, R., Aguirre, Y., Ángel, L. 2012. Patogenicidad del nematodo agallador, *Meloidogyne enterolobii,* en Lulo (*Solanum quitoense* Lam), en macetas. Rev. Nematol. Medit. Maracay. Venezuela. 4p.

23. Cruz, P., Acosta, K., Cure, J.R., Rodríguez, D. 2007. Desarrollo y fenología del lulo (*Solanum quitoense var. septentrionale*) bajo polisombra desde siembra hasta primera fructificación. Revista Agricultura Colombiana 2(25). Colombia. 288-289 p.

24. Cruz, F. 2007. Control del nematodo nodulador de la raíz (*Meloidogyne* spp.) en el cultivo de okra americana (*Abelmoschus esculentus*)con Micorriza Vesiculo Arbuscular (VAM), *Trichoderma harzianum, Paecilomyces lilacinus, Pochonia chlamydosporia y* Marigold (Tagetes erecta). Tesis. Zamorano. Honduras. 19p.

25. Curtis, M.C., Robinson, A.F., PERRY, R.N. 2009. Chapter 6: Hatch and Host location. In Root- Knot Nematodes (Eds. Perry, R.N., Moens, M. and Starr J.L.). CABI, U.K., 1^{era} Edición. p. 139-163.

26. Dávila, L., Hío, J. 2005. Evaluación de la actividad biocontroladora de *Artrobotrys* sp y *Pecilomyces* sp*,* sobre *Meloidogyne javanica in vitro* y bajo condiciones de

invernadero en crisantemo (*Drendranthema grandiflora* Anderson). Revista Agronomía Colombiana. 23(1). Colombia. 11p.

27. Del Busto, A., Palomino, L., Murphy, L., León, L., Cruz, R., Santana, Y. 2009, Evaluación de la eficiencia de alternativas ecológicas para el control de nematodos del género *Meloidogyne* sp, en las casas de cultivo de la Empresa de Cítrico "Capitán Tomás". Universidad de Pinar del Río "Hermanos Saiz Montes de Oca". Cuba.

28. Díaz, M, 2010. "Bases Agronómicas para la utilización de restos agrarios en Biodesinfección de Suelos", Universidad Politécnica de Madrid, España.

29. Elósigue, O., Jiménez, J., Carr, A. 2006. Aislamiento, identificación y caracterización morofométrica de aislados nativos de hongos mitospóricos con potencialidad para el control de especies de insectos plaga. Revista FITOSANIDAD. La Habana – Cuba. 9p.

30. Eisenback, J., Hirschmann, H., Triantaphyllou, A. 1980. Morphological Comparasion of *Meloidogyne* Female Head Structures, Perineal Patterns, and Stylets. Journal Series of the North Carolina Agricultural Research Service. Carolina del Norte – Estados Unidos. 14p.

31. Flores, Camacho, R., Atkins, S., Manzanilla, López, R.H., Prado, Vera, I., Martínez, Garza, A. 2008. Caracterización de Aislamientos Mexicanos de *Pochonia Chlamydo*sp*oria* vas. *Chlamydo*sp*oria* (Goddard) Gams y Zare para el Control Biológico de *Nacobbus aberrans* (Thorne) Thorne y Allen. México. Revista Mexicana de Fitopatologia. 26(2). México 12 p.

32. French, E.R., Herbert, T. T. 1982. Métodos de investigación fitopatológica. San José, CR, IICA. 175-17p.

33. Gams y Bissett, 1998. Morphology and identification of Trichoderma in: Trichoderma and Gliocladium Vol. 1. 3-31p.

34. Gams, W., R. Zare. 2001. A revision of Verticillium sect. Prostrata. III. (Generic classification). Nova Hedwigia. 72 (3-4): 329-337.

35. Garcés, E., Orozco, M., Bautista, R., Valencia, H. 2010. *Fusarium oxi*sp*orum* EL hongo que nos falta conocer. Acta Biológica Colombia. 6(1). Colombia. 20p.

36. García, F., Obando, J., Betancourt, G. 2004. Reconocimiento de especies de *Meloidogyne* en Tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y Lulo *(Solanum quitoense)* en la zona Norte del Departamento de Nariño. Revista de Ciencias Agrícolas. 21(i1 y 2). Pasto – Colombia. 12 p.

37. Gelpud C., Mora E., Salazar C. y Betancourth C., 2010. Susceptibilidad de genotipos de *Solanum* spp. al nematodo causante del nudo radical *Meloidogyne* spp. (Chitwood). *Acta agronómica, 60(1)*: 50-67.

38. Goddard, H.N. (1913). Can fungi living in agricultural soil assimilate free nitrogen *Bot. Gaz.*, 56:249-305.

39. Gómez, E. 2008. Caracterización de cepas toxígenas del género *Fusarium* técnicas de biología molecular. Tesis. PhD. Valencia. Es., Universidad Politécnica de Valencia. 7p.

40. Guerra, K. 2014. Evaluación de *Paecilomyces variotii.* Para el control de *Pratilenchus* spp*.* En plantas madre de Crisantemo. Tesis. Universidad Rafael Landívar. Guatemala. 52p.

41. Gunasekera, T., Holland,R., Gillings, M., Briscoe, D., Neethling, D., Williams, K., Nevalainen, K. 2002. Phenotypic and genetic characterization of *Paecilomyces lilacinus* strains with biocontrol activity against root-knot nematodes. Canadian Journal of Microbiology 46: 775–783.

42. Hernández, M. 2009. Interacción de *Glomus mosseae – Pochonia chlamydo*sp*oria var cenatula y Meloidogyne incognita* en tomate (*Solanum*

Lycopersicum L.). Tesis. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana-Cuba.

43. Hío, J. 2000. Efecto biocontrolador del hongo depredador. *Arthrobotrys* sp*.* Sobre el fitonematodo *Meloidogyne* sp*.* En: Taller Internacional del Control Biológico. Memorias. Corpoica. Bogota. 28-31p.

44. Howell, C, R. 2003. Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. Plant Disease 87(1):1-10.

45. Howell, C.R., 2006. Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. Phytopathology 96, 178–180.

46. Humber, R.A. 1998. Entomopathogenic Fungal Identification.

47. Infante., Martínez, B., González, N y Reyes, Y. 2009. Mecanismos de acción de Trichoderma Frente a hongos fitopatógenos. *Rev. Protección Veg.* 24 (1), 80p.

48. INTA. 2007. Aislamiento de identifican de *Fusarium* spp*.* a partir de granos de trigo. Relación entre ocurrencia de la especie y la incidencia de la enfermedad. Argentina. 25p.

49. Karssen, G. and Moens, M. 2006. Rootknot nematodes. En: Plant Nematology (R.N. Perry, M. Moens, eds.). Plant Nematology. CABI publishing, Wallingford, U.K., pp. 59-90.

50. Kiewnick, S., Sikora, R. 2005. Biological control of the root-knot nematode Meloidogyne incognita by Paecilomyces lilacinus strain 251. Biological control 38:179-187.

51. Leandro, L.F.S., Guzmán, T., Ferguson, L.M., Fernandez, G.E., Louws, F.J., 2007. Population dynamics of Trichoderma in fumigated and compostamended soil and on strawberry roots. Applied Soil Ecology 35, 237–246.

52. Leiva, J. 2009. Evaluación del hongo nematofago *Pochonia chlamydo*sp*oria,* en el control del nematodo *Meloidogyne* sp*,* en el cultivo de Sacha Inchi *Plukenetia volubilis* bajo condiciones de vivero. Tesis. Universidad Nacional de San Martín. Tarapoto – Perú. 163 p.

53. López-Llorca, L.V. (1990). Purification and properties of extracellular proteases produced by the nematophagous fungus *Verticillum suchla*sp*orium*. *Canadian Journal of Microbiology*, 36: 530-537.

54. López-Llorca, L.V. y Robertson, W.N. (1992). Immunocytochemical localization of a 32-kDa protease from the nematophagous fungus *Verticillium suchla*sp*orium* in infected nematode eggs. *Experimental Mycology*, 16: 261-267.

55. Lozano, J., Floriana, J., Vera, L., Segura, J. 2007. Enfermedades y plagas del cultivo de Lulo (*Solanum quitoense*) en el departamento de Huila. Boletín. Centro de Investigación Nataima. El Tolima-Colombia. 33p.

56. Marín M, (2012), Evaluación de la eficacia de diferentes productos en el control de *Meloidogyne* en el cultivo de tomate, Universidad de Almería, España.

57. Martínez, E.; G. Barrios; L. Rovesti y R. 2007. Santos: Manejo Integrado de Plagas. Tarragona España: Edición Grup Bou, p. 420.

58. Mendoza, D. 2010. Identificación y evaluación de agentes mircobiales nativos como potenciales biocontroladores de *Meloidogyne* spp*, Rotylenchus reniformes y Ptratylenchus* spp*,* en tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*). Tesis. Universidad Técnica de Manabí. Facultad de Ingeniería Agronómica. Manabí-Ecuador. 115p.

59. Mendoza, G., Wilson, J., Colina, J. 2013. Efecto de *Trichoderma atroviride, Trichoderma harzianum y Trichoderma viride* sobre huevos de *Meloidogyne* sp. en condiciones de laboratorio. Revista Científica de Estudiantes. 1(2). Trujillo-Perú.

60. Meneses, H. A. 2003. Utilización de hongos endofíticos provenientes de bananno orgánico para el control biológico del nematodo barrenador *Radopholus similis* cob. Thorne, Centro agronómico tropical de investigación y enseñanza. Torrialba. Costa Rica. 89 p.

61. Messiaen C. M.; Cassini R. 1989. Systematique des *Fusarium* sp389-450p.

62. Moens, M., Perry, R.N. and Starr, J.L., 2009. *Meloidogyne* species- a Diverse Group of Novel and Important plant parasites. In: Root-Knot Nematodes (Eds. Perry, R.N., Moens, M. and Starr, J.L.). CABI, U.K., pp. 8-9.

63. Moens, M., Perry, R.N. Starr, J.L. 2009. Meloidogyne species- a Diverse Group of Novel and Important plant parasites. CABI. 1^{era} Edición. Norte América. 489 p.

64. Morales, D. 2014. Bioprospección de hongos endófitos para el control biológico de l nematodo barrenador Radophulos similis (Coob) Thorn en el cultivo de banano. Tesis. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Turrialba – Costa Rica. 54p.

65. Moreno, Z. 2000. Correlación de la tasa de crecimiento radial y tasa de crecimiento específico de los hongos filamentosos aislados de la planta *Espeletia barclayana.* Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá –Colombia. 133p.

66. Morton, O.C., Hirsch, P.R., Peberdy, J.P., Kerry. B.R. (2003). Cloning of and genetic variation in protease VCP1 from the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. *Mycol. Res*., 107(1): 38-46.

67. Moura, F., Mauro, V. 2011. Trichoderma harzianum reduce la población de Meloidogyne incognita en plantas de pepino bajo condiciones de invernadero. Vol. 4 (6), 54-57p.

68. Mukhtar, T., Arshad, M., Zameer, M. 2013. Biocontrol potential of Pasteuria penetrans, Pochonia chlamydosporia, Paecilomyces lilacinus and Trichoderma harzianum against Meloidogyne incognita in okra. Phytopathologia Mediterranea 52 (1):66−76.

69. Navarro, F., Del Prado, I., Romero, L. 2012. Aislamiento y potencial parasítico de un asilamiento nativo de *Pochonia chlamydo*sp*oria* en contra de *Naccobus aberrans* en Fríjol. Revista Mexicana de Fitopatología. Texcoco-México. 14p.

70. Padilla, W., Orozco, M., Esquivel A. 2014. Evaluación *in vitro* de hongos nematófagos en zonas arroceras de costa rica contra el nematodo agallador *Meloidogyne javanica.* Rev, Agronomía Costarricense. 38 (2). Costarrica. 19 p.

71. Páez, M.E., Albarracin, N. 2007. Evaluación de la capacidad antagónica de *Trichoderma koningii* sobre *Fusarium oxy*sp*orum* f. sp. *lycopersici.* Rev. Fav. Agron. (LUZ). Supl. 1: 27 – 31.

72. Peraza, W., Orozco, M; Esquivel, A. 2014. Evaluación *in vitro* de hongos nematofagos en zonas arroceras de Costa Rica contra el nematodo agallador *Meloidogyne javanica.* Revista Agronomía Costarricense 38(2). Costa Rica. 14p.

73. Perry, R.N., Moens, M. and Starr, J.L. (Eds). 2009. Root-Knot nematodes. CABI. Oxfordshide, U.K., 520 pp.

74. Peteira, B., Puertas, A., Hidalgo, L., Hirsch, P.R., Kerry, B.R., Atkins, S.D. (2004). Monitoring and assessing the release of two applications of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydo*sp*oria* var. *catenulata* and its effect upon root-knot nematode populations in the field*. Applied Environmental Microbiology.*

75. Pineda, H. S., & Zapata, J. C. (1996). Principales enfermedades del Manzano (Matus sp. b.), Lulo (Sotanum quitoense Lam.) y Mora (Rubus glaucus Benth) en Caldas. *Editores Rafael Guillermo Botero Isaza. Germán Franco Manuel José Giraldo Cardona. Diego Abad Arango*. Bogotá – Colombia. 136p.

76. Pocasangre, LE. 2004. Nuevas estrategias para el manejo de nematodos en musáceas, y otras plagas asociadas al cultivo de las musáceas" celebrado en Guayaquil, Ecuador. 11- 13 de agosto, 2003. Montpelier, FR, INIBAP. 121 p.

77. Puertas, A. L. 2007. Uso de *Pochonia chlamydo*sp*oria* var *cenatula (*Kamyscho ex Barron y Onions*)* Zare y Gams como agente de control biológico *Meloidogyne incognita* (Konfoid y White) Chitwood en cultivos hortícolas. Universidad Agraria de la Habana. Tesis en Ciencias Agrícolas. La Habana-Cuba.

78. Puertas, A., Hidalgo, L. 2007. Influencia de la planta hospedante y su interacción con *Meloidogyne incognita* sobre la efectividad de *Pochonia chlamydo*sp*oria var. catenulata.* Revista Protección Vegetal 2(22). Cuba.

79. Puertas, A., Hidalgo, L. 2009. Efecto del momento de la aplicación de *Pochonia chlamydo*sp*oria* var *cenatula* sobre su eficacia en el control de *Meloidogyne incognita*. 24(3). Revista Protección Vegetal. La Habana-Cuba. 3p.

80. Regaieg H., *et al.* 2011. World Journal of Microbiology y Biotecnología. vol. 27 Número 7.Tunecina. 1615 – 1623 p.

81. Requene, A. 2013. Control biológico de *Meloidogyne incognita* en Pimiento (*Capsicum annum*). Universidad Técnica de Cartagena. Tesis. Cartagena-Colombia. 151p.

82. Revelo, J. 2009. Informe técnico final consolidado del proyecto "Manejo integrado de plagas para el mejoramiento de la producción sostenible de frutas en la zona andina".

83. Rey, M., Delgado-Jarana, J., Rincon, A., Benítez, T.2000. Mejora de cepas de Trichoderma para su empleo como biofungicida.Revista Iberoamericana de Micología.

84. Rodríguez, M., Sánchez, L., Gómez, L., Hidalgo, L., González, E., Gómez, M., Díaz, L., Casanova, A., Cuadra, R., Fernández, E., Hernández, R., 2013.*Meloidogyne* spp., plagas de las hortalizas: alternativas para su manejo en sistemas de cultivo protegido. Rev. Protección Veg. Vol. 20 (1).

85. Romero, D. 2004. Efectos de aplicación de *Paecilomyces lilacinus* en el control de *Meloidogyne* spp*.* en pepino. Tesis. Zamorano. Honduras. 32p.

86. Salazar, C., Betancourth, C., Castillo, A. 2012, Efecto de controladores biológicos sobre el nematodo *Meloidogyne* sppen lulo (S*olanum quitoense* Lam). Revista. Revista de Ciencias Agrícolas 2 (29). Colombia.

87. Samson, R.A. (1974). *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. Studies in Mycology 6:1.

88. Samuels G.J. (2005). Changes in taxonomy, occurrence of the sexual stage and ecology of Trichoderma spp. Phytopathology 96, 195-206.

89. Samuels, G. J. 1996. Trichoderma: a review of biology and systematic of the genus. Mycological Research, 100, 923-935.

90. Samuels, GJ., Chaverri, P., Farr, DF., McCray, EB. 2010. Trichoderma (on line). Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA.

91. Sañudo, B., Salazar, C., Betancourth, C. 2003. Principios de nematología agrícola. Tesis en Ingeniería Agronómica. Universidad de Nariño. Pasto. Colombia. 120 p.

92. SENASA (Servicio Nacional y Calidad Agroalimentaria Ministerio de Agricultiura, Ganadería y Pesca). 2010. *Meloidogyne javanica.* Folleto. Argentina. 3 p.

93. Sharon E, Chet A. Herrera, Kleifeld E, and Y. Spiegel 2001. Control biológico del nematodo *Meloidogyne javanica* por *Trichoderma harzianum*. 91(7).

94. Solano, T.F. 2014. Alternativas para el manejo agroecológico de *Meloidogyne incognita* (Konfoid & White) Chitwood, tomate (*Solanum lycopersicum L.*) en la provincia de Loja, Ecuador. Tesis en opción de Grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas mención Sanidad Vegetal. 140 p.

95. Solano, T.F., Castillo, M., Medina, J., Del Pozo, E. 2014. Efectividad de hongos nematofagos sobre *Meloidogyne incognita* (Konfoid y White) Chitwood en tomate en condiciones de campo, Loja, Ecuador. Revista Protención Vegetal. Loja – Ecuador. 5p.

96. Sondor, 2007. Control del nematodo nodulador de la raíz *(Meloidogyne* spp*.) en el cultivo de okra americana (Abelmoschus esculentus)* con Micorriza Vesiculo Arbuscular *(VAM), Trichoderma harzianum, Paecimomyces lilacinus pochonia chlamydo*sp*oria y Marigold (Tagetes erecta).* Tesis. Zamorano. Honduras. 19p.

97. Taylor, A. y Sasser, J. 1983. Biología, identificación y control de nematodos del nudo de la raíz (especies de *Meloidogyne*) C.I.P USA. Artes gráficas de la Universidad del Estado de Carolina del Norte. 111p.

98. Torres, J. 2014. Biodesinfeción del suelo y uso de *Pochonia chlamydo*sp*oria,* en el manejo de *Meloidogyne arenaria,* en el cultivo de guayabo en el oriente de Michoacán. Tesis. Colegio de Postgraduados. Instituto de enseñanzas e investigación en ciencias agrícolas. México. 88p.

99. Vinale, F., Marra, R., Scala, F., Ghisalberti, E.L., Lorito, M., Sivasithamparam, K., 2006. Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma strains* active against different phytopathogens. Letters in Applied Microbiology 43, 143–148.

100. Williamson, V.M.; y Gleason, C.A. 2003. Plant-nematode interactions. *Current Opinion in plant Biology 6*: 327-33p.

101. Zambonino, M. 2012. Formas de ingreso de “frutas del ecuador” como marca país hacia el mercado brasilero caso: naranjilla liofilizada. Universidad Internacional del Ecuador. Tesis de Magister en Negocios en Internacionales. Quito. Ecuador.

102. Zare, R., Gams, W., Evans, H.C. 2001. A revision of *Verticillium* section *Prostata. V.* The genus *Pochonia,* with notes on *Rotiferopthora*. Iran Nova Hedwigi 73. 51-86p.

103. Zuckerman, B. M., Mai, W. F., Harrinson, M. B. 1987. Fitonematologia. Manual de Laboratorio. CTIE. Turrialba, C.R.

8. ANEXOS

GRADO	***NÚMERO DE HUEVOS O NODULACIONES***
G: 0	***0***
G: 1	***1 - 2***
G: 2	***3 - 10***
G: 3	***11 - 30***
G: 4	***31 - 100***
G: 5	***> 100***

Anexo 1. Escala cuantitativa de daño radical causado por Meloidogyne spp. Taylor y Sasser (1983).

TRATAMIENT	AISLAMIENT	PARASITISMO EN HUEVOS A LAS 144 HR (INOCULO INICIAL 80 HUEVOS)										
		REPETICIONES										PORCENTA PROMEDIO
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	
T1	***F001F***	7	7	7	7	6	6	6	6	6	7	8,1%
T2	***NZO2(J_2)F***	5	4	4	4	4	5	6	4	5	5	5,8%
T3	***YEL1F***	31	30	30	31	30	31	31	30	31	32	38,4%
T4	***CZT(J_2)F***	4	4	4	5	4	4	5	5	4	3	5,3%
T5	***YEM1 (S)F***	4	4	3	4	3	5	5	4	4	4	5,0%
T6	***YEL1(S)F***	8	7	8	8	8	8	8	7	8	8	9,8%
T7	***YEB2(J_2)P***	16	15	17	15	16	17	16	16	15	17	20,0%
T8	***CZN(J_2)V***	9	9	9	10	9	9	9	9	9	10	11,5%
T9	***YEM2(H)V***	12	12	11	10	10	11	10	10	10	11	13,4%
T10	***NZO2(S)V***	6	6	6	7	6	6	6	7	7	7	8,0%
T11	***Pch001V***	48	46	46	46	48	46	47	49	47	48	58,9%
T12	***YEL1 (S)V***	9	9	8	8	8	8	9	9	9	8	10,6%
T13	***YEL2(S)T***	6	7	6	6	6	7	6	6	6	7	7,9%
T14	***NZP2T***	14	13	13	14	13	14	14	13	14	14	17,0%
T15	**YEB(J_2)*T***	41	40	40	40	40	41	42	41	41	41	50,9%
T16	***YEL2(J_2)T***	14	13	14	13	13	14	14	14	14	13	17,0%
T17	***CZT(H)T***	7	6	6	7	5	6	6	6	6	8	7,9%
T18	***NZP2(J_2)T***	26	27	26	28	26	28	26	26	28	28	33,6%
T19	***NZP(J_2)T***	38	39	37	37	38	39	37	38	38	37	47,3%
T20	***YEL1(J_2)T***	29	29	28	29	29	27	29	27	28	29	35,5%
T21	***YEM2(J_2)T***	6	8	6	6	6	6	7	7	8	6	8,3%
T22	***P004P***	37	36	36	36	38	37	37	36	38	37	46,0%
T23	***P002P***	33	32	33	31	33	31	31	33	31	31	39,9%
T24	***YEB2(H)P***	4	3	4	4	6	4	4	4	3	4	5,0%
T25	***YEM2(H)P***	19	18	18	17	17	18	19	18	18	18	22,5%
T26	***CZG(H)P***	33	32	34	33	33	34	34	33	33	34	41,6%
T27	***LAA(H)P***	39	40	39	39	38	38	39	39	38	39	48,5%
T28	***CTJ(J_2)P***	4	4	5	4	4	4	3	4	3	3	4,8%
T29	***CTT1(H)P***	31	32	33	33	33	33	33	34	33	33	41,0%
T30	***CZT(H)P***	4	5	4	4	4	3	5	4	4	5	5,3%
Testigo	***T00***	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0%

Anexo 2. Parasitismo de huevos de *Meloidogyne javanica,* por aislamientos nativos de hongos nematofagos, en condiciones *in vitro*, Loja. 2015.

TRATAMIENT	AISLAMIEN	PORCENTAJE DE PARASITISMO EN J_2A LAS 144 HR (INOCULO INICIAL DE 50 J_2)										
		REPETICIONES										PORCENTA
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	PROMEDIO
T1	***F001F***	6	5	6	5	6	6	5	6	5	6	11,2%
T2	***NZO2(J_2)F***	6	5	6	5	6	5	5	6	6	6	11,2%
T3	***YEL1F***	18	19	18	19	18	19	19	19	19	19	37,4%
T4	***CZT(J_2)F***	5	6	5	6	6	5	6	5	6	5	11,0%
T5	***YEM1 (S)F***	5	6	6	5	6	6	5	5	5	5	10,8%
T6	***YEL1(S)F***	5	6	5	6	5	6	6	6	5	5	11,0%
T7	***YEB2(J_2)P***	4	5	5	4	5	4	5	5	4	5	9,2%
T8	***CZN(J_2)V***	2	3	2	3	3	3	3	4	4	3	6,0%
T9	***YEM2(H)V***	5	6	5	5	6	6	5	6	6	6	11,2%
T10	***NZO2(S)V***	5	6	6	6	6	6	6	7	6	7	12,2%
T11	***Pch001V***	26	25	26	26	26	28	25	28	26	26	52,4%
T12	***YEL1 (S)V***	9	8	7	7	8	8	8	7	8	8	15,6%
T13	***YEL2(S)T***	6	5	6	6	6	6	6	6	6	6	11,8%
T14	***NZP2T***	6	7	6	6	7	7	7	6	7	7	13,2%
T15	**YEB(J_2)*T***	21	22	21	21	20	21	20	21	21	21	41,8%
T16	***YEL2(J_2)T***	11	10	10	10	11	10	11	10	10	11	20,8%
T17	***CZT(H)T***	8	7	8	7	8	8	7	7	7	8	15,0%
T18	***NZP2(J_2)T***	11	10	11	10	10	11	10	10	10	10	20,6%
T19	***NZP(J_2)T***	24	23	25	23	23	25	25	25	23	23	47,8%
T20	***YEL1(J_2)T***	22	21	22	22	23	21	21	23	23	21	43,8%
T21	***YEM2(J_2)T***	7	6	6	6	6	7	6	7	7	6	12,8%
T22	***P004P***	23	24	23	24	23	23	23	22	23	24	46,4%
T23	***P002P***	25	23	24	25	25	24	24	24	23	23	48,0%
T24	***YEB2(H)P***	10	11	11	11	10	11	11	11	10	10	21,2%
T25	***YEM2(H)P***	9	10	9	10	9	9	10	10	10	10	19,2%
T26	***CZG(H)P***	19	18	19	17	19	17	19	17	19	19	36,6%
T27	***LAA(H)P***	26	24	24	25	24	25	24	23	26	25	49,2%
T28	***CTJ(J_2)P***	5	4	4	5	4	5	6	5	6	4	9,6%
T29	***CTT1(H)P***	26	29	28	24	26	24	28	24	26	24	51,8%
T30	***CZT(H)P***	4	5	6	4	6	6	6	6	6	5	10,8%
Testigo	***T00***	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0%

Anexo 3. Parasitismo de juveniles J_2 de *Meloidogyne javanica*, por aislamientos nativos de hongos nematofagos, en condiciones *in vitro*, Loja. 2015.

TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	ALTURA DE PLANTAS (cm)																				
		REPETICIONES																				MEDIA
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	
T1	YEB(J_2)*T*	23	23	24	25	24	24	23	26	28	24	24	24	23	25	25	24	27	28	26	28	24,9
T2	*Pch001V*	21	20	21	20	21	20	20	19	20	19	21	20	21	20	20	19	20	20	20	20	20,1
T3	*LAA(H)P*	24	25	21	23	23	24	23	22	21	22	23	23	21	20	21	22	21	20	22	23	22,2
T4	*P004P*	19	25	22	20	19	19	21	21	21	19	19	21	20	20	19	21	19	21	19	19	20,2
T5	*NZP(J_2)T*	21	21	20	22	22	22	21	23	22	22	21	20	23	21	20	22	20	21	23	23	21,5
T6	*CTT1(H) P*	21	20	22	22	21	20	22	21	21	20	20	23	21	21	21	21	21	21	22	22	21,2
T7	*P002P*	23	22	23	22	23	23	25	23	24	23	22	22	24	23	24	24	24	26	22	23	23,3
T8	*YEL1F*	24	25	25	23	25	25	23	26	25	26	26	26	28	29	26	24	26	27	28	24	25,6
T9	*YEL1(J_2)T*	20	21	20	21	21	22	20	21	21	22	21	22	23	21	21	22	21	21	22	22	21,3
T10	*CZG(H)P*	21	23	21	23	23	22	21	22	20	23	23	24	23	23	21	22	21	23	23	21	22,2
T11	*TESTIGO*	19	18	18	17	18	19	18	19	20	20	19	20	19	19	18	20	20	21	19	20	19,1

Anexo 4. Efecto de aislamientos fúngicos sobre la variable altura de planta en naranjilla, en invernadero. Loja. 2015.

TRATAM	AISLAMIENTO	PESO DE ÁREA FOLIAR (g)																					
		REPETICIONES																					MEDIA
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	
T1	YEB(J_2)*T*	57.3	57.7	56.6	58.2	56.3	53.1	53.2	59.4	59.8	55.7	52.3	55.8	53.6	57.3	56.2	56.8	57.3	53.3	54.2	55.9	56
T2	*Pch001V*	44.7	44.6	45.8	45.8	48.1	48.3	48.1	47.2	46.4	43.6	44.5	49.3	44.5	44.5	46.6	49.2	44.2	45.7	48.1	46.3	46,3
T3	*LAA(H)P*	44.3	44.1	44.8	44.3	42.5	47.5	48.3	48.5	47.2	43.1	48.6	45.3	48.2	44.6	48.5	46.3	44.3	46.8	44.6	44.2	45,8
T4	*P004P*	47.3	48.2	49.3	44.8	43.6	46.5	46.9	46.3	48.3	48.5	48.2	43.3	46.3	49.2	47.3	49.8	48.5	46.1	48.2	44.3	47
T5	*NZP(J_2)T*	54.4	53.5	54.8	56.4	53.7	56.8	57.5	53.2	56.3	51.3	52.2	52.5	51.5	54.2	55.3	52.9	55.3	53.6	56.4	53.4	54,3
T6	*CTT1(H)P*	48.5	44.5	47.3	48.6	48.4	45.9	47.5	44.5	46.3	47.3	48.2	46.5	46.4	46.2	48.3	49.3	49.6	48.2	47.8	48.9	47,4
T7	*P002P*	57.3	59.6	56.3	56.6	54.3	53.4	55.3	56.4	52.8	51.3	56.5	54.5	55.6	53.4	56.4	57.6	53.2	54.7	54.6	51.6	55,1
T8	*YEL1F*	63.6	62.3	62.6	63.3	64.5	63.6	61.5	62.6	63.3	62.6	63.2	64.2	65.3	60.3	60.5	62.3	65.2	67.3	66.2	64.3	63,4
T9	*YEL1(J_2)T*	53.2	51.2	52.5	53.2	51.2	50.2	50.2	50.3	53.1	54.2	50.1	55.3	54.6	54.2	53.5	54.6	54.3	55.1	55.5	53.8	53
T10	*CZG(H)P*	55.8	53.3	53.2	52.8	53.7	52.6	51.3	56.1	54.6	55.9	54.6	54.3	56.2	55	53.4	54.5	53.2	53.2	54.6	53.8	54,1
T11	*TESTIGO*	40.2	41.5	42.3	41.3	42.3	43.2	41.6	42.3	41.3	39.3	41.3	40.7	42.1	43.1	40.6	41.9	40.4	40.3	39.4	41.2	41,3

Anexo 5. Efecto de aislamientos fúngicos sobre la variable peso de área foliar sobre en plantas de naranjilla, en invernadero. Loja. 2015.

TRATAM	AISLAMIENTO	PESO DE ÁREA RADICAL (g)																				
		REPETICIONES																				MEDIA
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	
T1	YEB(J_2)T	42,4	43,2	46,2	45,3	43,5	43,3	45,3	43,6	44,3	48,3	46,2	47,6	45,3	48,6	49,7	44,1	43	46,8	49,5	49,4	45,8
T2	*Pch001V*	46,3	48,6	45,5	46,5	44,9	47,3	48,3	47,3	48,3	43,4	46,3	45,3	42,2	44,6	45,9	43,8	46,2	47,3	46,2	44,6	45,9
T3	*LAA(H)P*	61,3	63,2	63,2	62,5	60,3	61,8	62,2	64,6	61,3	63,6	63,8	63,7	62,5	61,,5	63,5	65,5	65,9	63,3	60,3	63.6	56,7
T4	*P004P*	62,5	63,3	60,3	64,3	66,8	62,8	65,3	63,9	65,3	69,3	66,5	63,7	65,7	66,9	63,5	69,2	63,8	68,5	60,1	62,5	64,7
T5	*NZP(J_2)T*	47,4	48,3	44,8	45,4	48,3	49,5	47,5	49,3	46,4	42	42,3	44,6	43,6	42,5	45	43	43,6	41,3	44,6	42,9	45,1
T6	*CTT1(H)P*	96,3	95,2	92,3	95,2	92,4	93,5	96,2	95,6	95,3	91,9	93,5	93,6	92,3	92,3	92,8	93,8	94,5	96,3	93,9	94,6	94,1
T7	*P002P*	40,3	42,3	41,1	40,4	41,3	40	41,3	40,5	48,2	46,8	45,3	46,8	47,3	43,5	45,4	47,7	42,2	42,3	42,3	41,3	43,3
T8	*YEL1F*	75,4	73,2	76,2	75,4	72,4	70,5	76,3	71,3	73,2	73,2	74,8	73,1	73,8	72,3	73,9	71	70,5	72,3	74,9	70,5	73,2
T9	*YEL1(J_2)T*	46,3	45,3	42,6	46,3	45,6	43,8	45,8	46,1	42,3	41,3	42,4	45,4	42,3	42,4	40,4	45,3	43,2	42,6	41,1	45,1	43,8
T10	*CZG(H)P*	56,3	56	58,3	58,3	58,5	59,3	57,5	54,5	53,5	53,5	52,6	52,6	55,3	52,6	52,9	53,5	53,8	54,6	52,3	53,8	54,9
T11	*TESTIGO*	39,5	35,2	33,1	30,1	33,8	31,5	35,6	35,8	34,6	38,2	35,2	36,2	38,4	36,6	36,2	34,8	34,4	38,3	35,6	33,8	35,3

Anexo 6. Efecto de aislamientos fúngicos sobre la variable peso de área radical sobre en plantas de naranjilla, en invernadero. Loja. 2015.

TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	ÍNDICE DE AGALLAMIENTO																				
		REPETICIONES																				MEDIA
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	
T1	YEB(J_2)T	4	4	4	5	4	4	3	3	4	3	3	4	3	2	2	4	4	3	3	3	3,5
T2	*Pch001V*	2	2	2	3	2	2	3	4	2	1	2	3	2	2	2	2	1	3	2	3	2,3
T3	*LAA(H)P*	4	4	3	4	4	3	3	3	4	4	4	3	2	4	4	3	4	4	3	3	3,5
T4	*P004P*	1	3	3	2	3	3	2	3	2	3	2	2	3	3	3	3	2	3	1	2	2,5
T5	*NZP(J_2)T*	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3,0
T6	*CTT1(H)P*	3	3	3	3	3	4	3	2	3	3	4	3	4	3	2	2	3	3	2	2	2,9
T7	*P002P*	4	3	3	4	3	4	3	4	3	3	2	4	4	3	4	3	4	3	4	1	3,3
T8	*YEL1F*	4	4	3	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	4	2	2	4	3,6
T9	*YEL1(J_2)T*	4	3	4	3	3	3	4	2	3	3	4	4	3	4	4	3	4	4	3	3	3,4
T10	*CZG(H)P*	4	4	4	4	4	4	3	3	2	4	2	2	3	4	3	3	3	4	3	3	3,3
T11	*TESTIGO*	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5,0

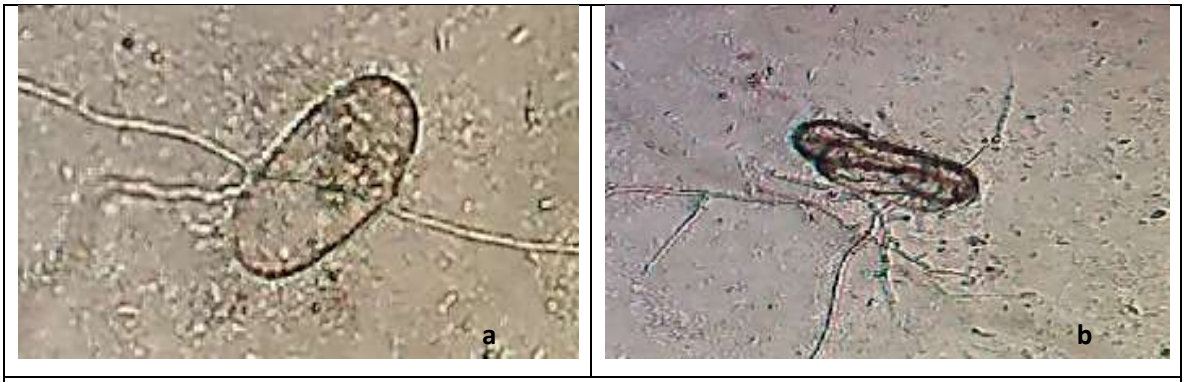
Anexo 7. Efecto de aislamientos fúngicos sobre la variable de índice de agallamiento en raíces de plantas de naranjilla, en invernadero. Loja. 2015.

TRAT	AISLAMIENT	POBLACIÓN DE NEMATODOS EN 10 g DE RAÍCES																				MEDI
		REPETICIONES																				
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	
T1	YEB(J_2)*T*	701	699	703	706	704	706	708	701	700	703	702	705	709	701	703	702	706	704	703	702	703
T2	*Pch001V*	433	436	431	436	435	436	433	430	438	431	433	431	432	436	432	433	436	431	432	431	433
T3	*LAA(H)P*	236	240	238	237	235	230	233	239	238	236	239	241	240	238	238	233	239	241	243	239	238
T4	*P004P*	151	148	146	147	149	148	150	149	147	146	149	151	146	153	146	147	149	146	149	148	148
T5	*NZP(J_2)T*	1586	1588	1583	1586	1589	1560	1582	1532	1586	1582	1583	1581	1579	1501	1501	1503	1583	1533	1584	1586	1565
T6	*CTT1(H)P*	1426	1428	1425	1429	1424	1426	1428	1426	1427	1429	1426	1428	1426	1427	1428	1427	1426	1423	1426	1428	1427
T7	*P002P*	143	140	143	139	138	142	146	143	146	143	142	145	143	144	142	141	143	141	140	139	142
T8	*YEL1F*	943	941	943	946	948	493	946	943	945	942	941	942	943	945	942	943	943	946	943	942	921
T9	*YEL1(J_2)T*	473	472	473	478	472	476	473	472	475	476	473	478	472	471	473	472	476	472	471	470	473
T10	*CZG(H)P*	1553	1556	1558	1551	1550	1553	1553	1553	1557	1554	1556	1553	1554	1552	1553	1557	1558	1553	1556	1553	1554
T11	*TESTIGO*	1696	1698	1693	1698	1699	1695	1693	1693	1695	1694	1693	1693	1695	1693	1693	1693	1693	1698	1694	1693	1695

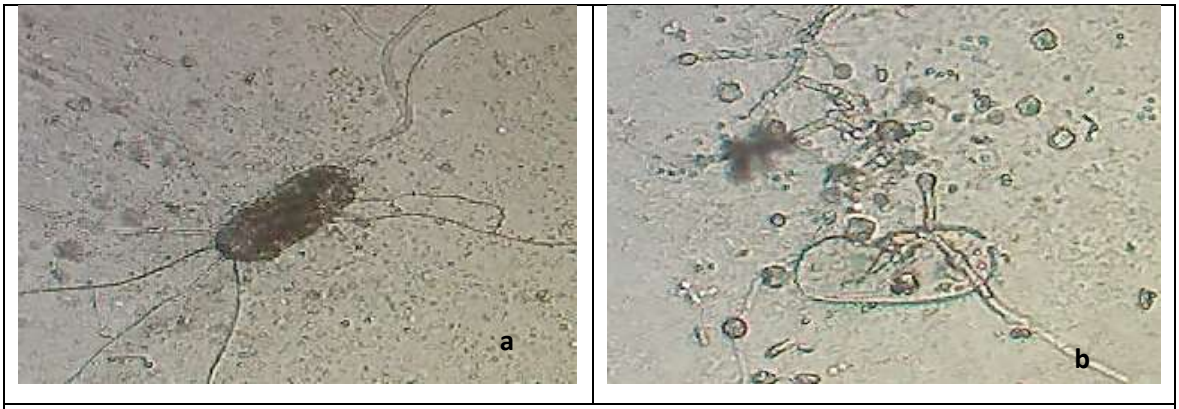
Anexo 8. Efecto de aislamientos fúngicos sobre la variable población de raíces en 10 gr de raíces. Loja. 2015.

TRAT	AISLAMIENT	POBLACIÓN DE NEMATODOS EN 100cc DE SUELO																				MEDIA
		REPETICIONES																				
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	
T1	YEB(J_2)*T*	593	596	593	593	594	591	592	593	592	596	593	593	591	592	593	591	596	598	596	592	593
T2	*Pch001V*	26	28	24	23	26	24	26	28	21	22	23	24	25	26	24	23	24	20	21	26	24
T3	*LAA(H)P*	163	164	166	165	163	162	165	162	166	163	163	165	164	168	163	165	168	166	163	162	164
T4	*P004P*	93	92	90	91	93	92	96	95	96	93	92	93	95	92	93	92	93	93	92	96	93
T5	*NZP(J_2)T*	142	143	146	148	146	145	146	148	143	143	142	146	145	144	143	146	143	142	144	143	144
T6	*CTT1(H)P*	163	166	162	163	161	163	165	163	168	168	163	62	165	64	163	163	165	166	168	163	154
T7	*P002P*	113	114	112	114	116	118	116	119	116	113	114	112	113	116	115	114	113	114	112	114	114
T8	*YEL1F*	296	298	296	295	294	293	295	296	294	295	296	293	297	295	2596	295	297	298	293	295	410
T9	*YEL1(J_2)T*	469	471	473	468	463	469	465	470	470	473	468	469	463	472	471	769	469	471	469	471	484
T10	*CZG(H)P*	86	86	84	83	85	86	84	82	81	80	86	89	86	85	83	84	86	82	83	86	84
T11	*TESTIGO*	1630	1631	1635	1632	1632	1634	1631	1634	1636	1630	1631	1634	1631	1638	1639	1638	1639	1634	1638	1633	1634

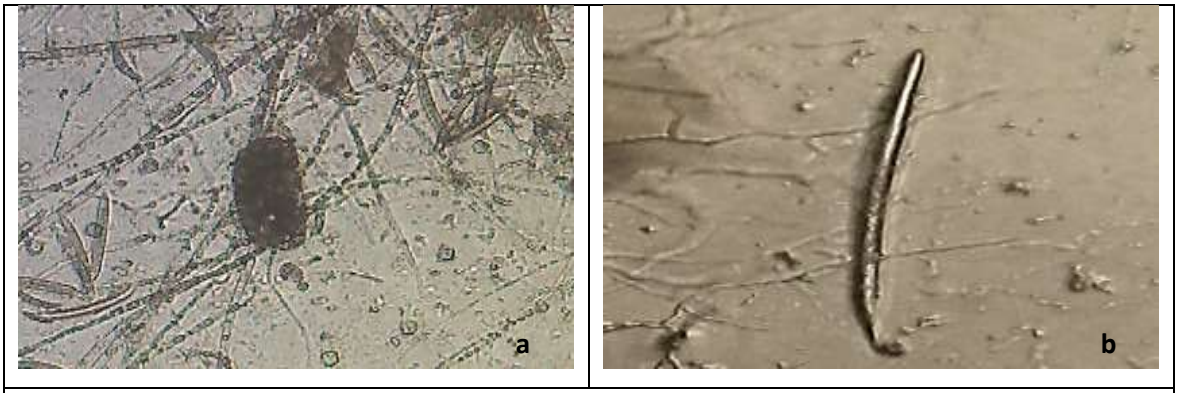
Anexo 9. Efecto de aislamientos fúngicos sobre la variable población de nematodos en 100 c^3 de suelo. Loja. 2015.



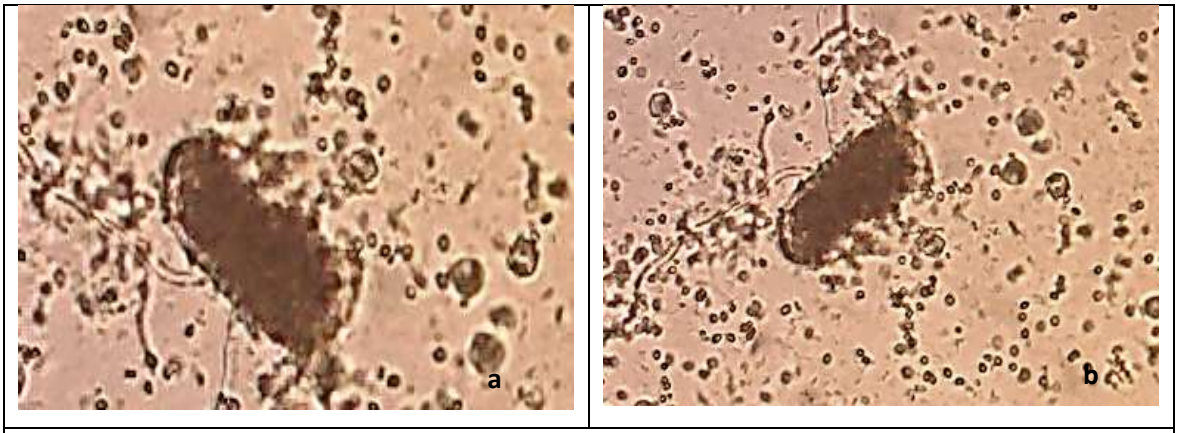
Anexo 10. Parasitismo de la cepa LAA (H) *Purpureocillium* spp, sobre huevos de *Meloidogyne javanica*. (10X).



Anexo 11. Parasitismo de la cepa YEL1 (J2) Trichoderma spp, sobre huevos de Meloidogyne javanica. (10X).



Anexo 12. Parasitismo de la cepa YEL1(S) *Fusarium* spp, a) sobre huevos y b) sobre larva J_2 de *Meloidogyne javanica*. (10X).



Anexo 13. Parasitismo de la cepa PCh001 *Pochonia* spp, sobre huevos de *Meloidogyne javanica*. (10X).

Anexo 14. Masificación de aislamientos de hongos nematofagos.

Anexo 15. Etiquetado de tratamientos e Inoculación de hongos nematofagos.

Anexo 16. Inoculación de hongos nematofagos.

Anexo 17. Cuantificación de agallas para índice de agallamiento según Taylor y Sasser 1983.

Anexo 18. Licuado y tamizado de raíces

Anexo 19. Cuantificación de nematodos en suelo y en raíces

Anexo 20. Exposición de resultados obtenidos en la investigación.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Confiere el presenta:

CERTIFICADO

A ACHUPALLAS ESPAÑA ROBERTO PATRICIO

Por su participación en calidad de Asistente, al día de Socialización de resultados del Proyecto de Tesis: ***"CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMATODO AGALLADOR DE LAS RAÍCES DE LA NARANJILLA Meloidogyne spp, MEDIANTE AISLAMIENTOS NATIVOS DE HONGOS NEMATÓFAGOS"***, realizado el día 11 de junio del 2015.

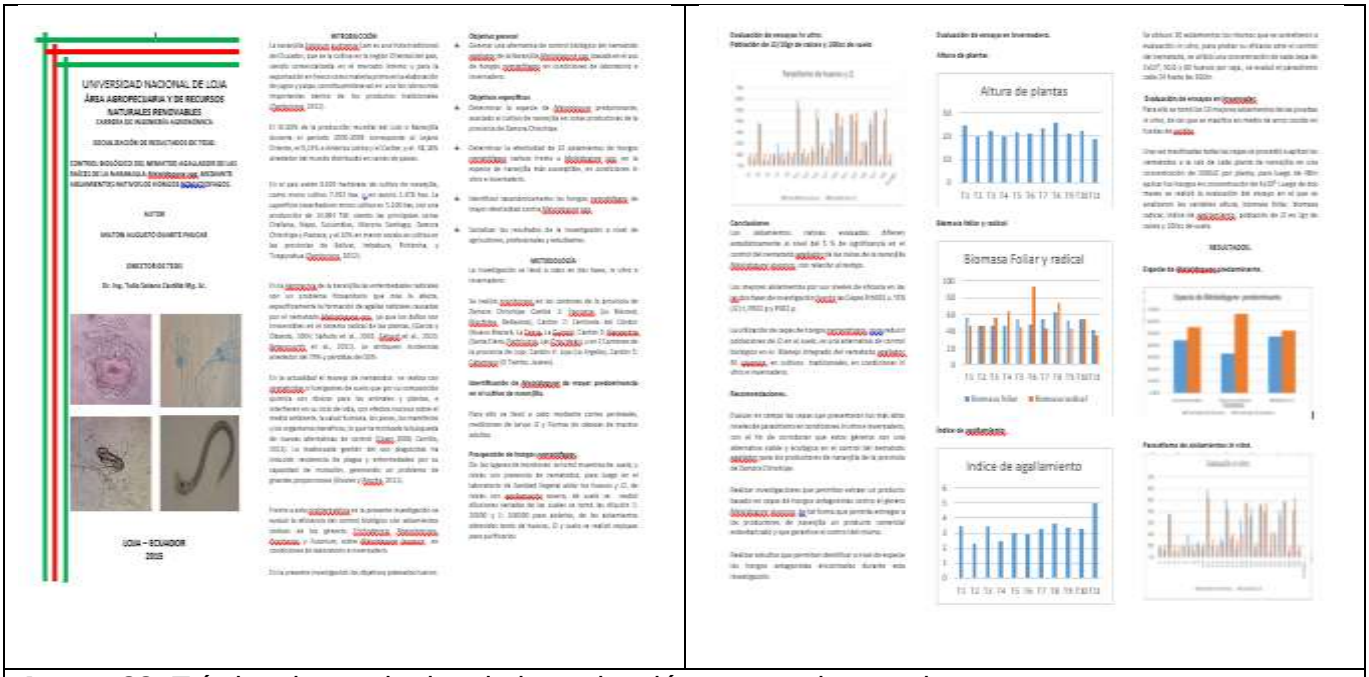
Loja 11 de junio del 2015.

Dr. Ing. Tulio Solano Castillo Mg. Sc. — DIRECTOR DE TESIS

Ing. Gilberto ÁlvarezCajas. — COORDINADOR DE CARRERA

Milton Duarte Paucar — TESISTA

Anexo 21. Certicado entregado a asistentes en la socialización de resultados.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

LOJA – ECUADOR
2015

Anexo 22. Tríptico de resultados de investigación entregados a asistentes.